

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ
DE PARIS

ANNÉE 1962

SÉRIE A. N° 1054

N° D'ORDRE : 1077

THÈSE

POUR OBTENIR LE TITRE DE
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(Mention Sciences)

PAR

Gabrielle BOURDON

1^{re} THÈSE :

**ÉTUDE QUANTITATIVE DE L'ÉPURATION SANGUINE
DE LA B. S. P.**

(Phénoltétrabromophtaleine disulfonate de sodium)

CHEZ LE RAT

SOUTENUE, LE 30 JUIN 1962 DEVANT LA COMMISSION D'EXAMEN

Jury	{	Mlle LE BRETON	}	<i>Président</i>
		MM. MOREL		<i>Examineurs</i>
		PASCAUD		

IMPRIMERIE WALLON

VICHY

1964

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ
DE PARIS

ANNÉE 1962

SÉRIE A. N° 1054

N° D'ORDRE : 1077

THÈSE

POUR OBTENIR LE TITRE DE
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(Mention Sciences)

PAR

Gabrielle BOURDON

1^{re} THÈSE :

**ÉTUDE QUANTITATIVE DE L'ÉPURATION SANGUINE
DE LA B. S. P.**

(Phénoltétrabromophtaleine disulfonate de sodium)

CHEZ LE RAT

SOUTENUE, LE 30 JUIN 1962 DEVANT LA COMMISSION D'EXAMEN

Jury	{	Mlle LE BRETON	{	<i>Président</i>
		MM. MOREL		<i>Examineurs</i>
		PASCAUD		

IMPRIMERIE WALLON

VICHY

1964

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

PROFESSEURS

Doyen M. ZAMANSKY

G. JULIA	T	Analyse supérieure et Algè-supérieure	JOST	T	Physiologie comparée
DE BROGLIE	T	Théories physiques	FORTET	T	Calcul des Probabilités et Physique mathématique
PRENANT	T	Anatomie et Histologie comparées	SCHWARTZ	T	Calcul diff. et Intégral
GRASSÉ	T	Evolution des êtres organisés	CHOUARD	T	Physiologie Végétale
PREVOST	T	Chimie organique	MALAVARD	T	Aviation (Techn. Aéronaut.)
CHAUDRON	T	Chimie appliquée	BRELOT	T	Calcul dif. et Intégral
WYART	T	Minéralogie et Cristal.	NORMANT	T	Synthèse organique générale
TEISSIER	T	Zoologie	BENARD	T	Chimie Minérale
MANGENOT	T	Biologie Vég. (Orsay)	BUVAT	T	Botanique (E.N.S.)
AUGER	T	Physique quantique et Relativité	DUGUE	T	Statistiques Mathématiques
MONNIER	T	Physiologie Générale	SOULAIRAC	T	Psychophysiologie
PIVETEAU	T	Paléontologie	ULRICH	T	Physiologie Végétale
ROCARD	T	Physique (E.N.S.)	MARÉCHAL	T	Optique théorique et Appl.
CARTAN	T	Mathématiques (E.N.S.)	KIRRMANN	T	Théories Chimiques
LAFITTE	T	Chimie générale	CHADEFAUD	T	Botanique
FAVARD	T	Géométrie supérieure	Mlle LE BRE-		
COULOMB	T	Physique du Globe	TON	T	Physiologie de la nutri.
Mlle COUSIN	T	Biologie Animale (S.P.C.N.)	SALEM	T	Mathématiques générales
CHRÉTIEN	T	Chimie minérale	LELONG	T	Applic. de l'analyse à la géométrie
DRACH	T	Zoologie	DEVILLERS	T	Anatomie et Histologie Comp.
KASTLER	T	Physique (E.N.S.)	EHRESMANN	T	Topologie Algébrique
EPHRUSSI	T	Génétique	FRANÇON	T	Physique (S.P.C.N.)
RIVIÈRE	T	Géologie S.P.C.N. et sédim.	GLANGEAUD	T	Géographie phys. et Géologie dynamique
GAUTHERET	T	Biologie Vég. (P.C.B.)	GODEMENT	T	Mathématiques (M.P.C.)
LUCAS R.	T	Recherches Physiques	PISOT	T	Tech. Mathém. de la Phys.
THOMAS A.	T	Biologie cellulaire	ROCH	T	Géologie
ARNULF	T	Optique appliquée	SCHATZMAN	T	Astrophysique
MORAND	T	Physique Enseignement	TERMIER	T	Paléontologie stratig.
SOLEILLET	T	Physique (P.C.B.)	ZAMANSKY	T	Mathématiques générales
FORTIER	T	Mécanique exp. des Fluides	LENNUIER	T	Physique (M.G.P.)
DANJON	T	Astronomie	RIZET	T	Génétique (Orsay)
PETIT	T	Biologie maritime	ROUTHIER	T	Géologie appliquée
QUENEY	T	Météorologie et dynamique atmosphérique	Mme TONNELAT	T	Physique Théorique
GALLIEN	T	Embryologie	DIXMIER	T	Mathématiques (M.P.C.)
EICHORN	T	Botanique	SOUGHAY	T	Chimie générale
DE CUGNAC	T	Biologie Végétale (S.P.C.N.)	AIGRAIN	T	Electrotechnique gén.
Mlle CAUCHOIS	T	Chimie Physique	BRUSSET	T	Chimie systématique
THELLER	T	Physique du Globe	M. LÉVY	T	Chimie théorique des hautes énergies (Orsay)
L'HÉRITIER	T	Biologie Générale (Orsay)	Mme CHAIX	T	Chimie biologique
GRIVET	T	Radioélectricité (Orsay)	Mme HUREL-PY	T	Biologie Végétale (P.C.B.)
PONCIN	T	Mécanique Générale	PIAUX	T	Chimie (M.P.C.)
DUBREIL	T	Arithmétique et théorie des Nombres	BRUN	T	Mécanique théorique des Fluides
QUELET	T	Chimie Organique	LEDERER	T	Chimie biologique
CAGNIARD	T	Géophysique appliquée	Mme DUBREIL	T	Mathém. (Agrégation)
CHAMPETIER	T	Chimie macromoléculaire	Mme LELONG	T	Mathématiques (E.N.S.)
CUVILLIER	T	Micropaléontologie	BELLAIR	T	Géologie (S.P.C.N.)
JUNG	T	Pétrographie	COTTE	T	Physique électricité
TRILLAT	T	Microscopie et diffraction électronique	DUBOIS J.E.	T	Chimie organique
WIEMANN	T	Chimie organique et struc.	LAMOTTE	T	Zoologie (E.N.S.)
JACQUINOT	T	Spectroscopie et physique céleste (Orsay)	MICHEL A.	T	Chimie Minérale (Orsay)
VASSY	T	Physique de l'atmosphère	OLMER	T	Energétique générale
DESTOUCHES	T	Théories Physiques	ROUAULT	T	Electricité (Orsay)
AMIEL	T	Chimie générale	GAUTHIER	T	Mécanique appliquée
HOCART	T	Minéralogie et Cristallog.	BARGEVITZ	T	Chimie Physique
J.P. MATHIEU	T	Physique (Optique)	BROSSEL	T	Physique atomique
COUTEAUX	T	Biologie animale (P.C.B.)	BUSER	T	Physiologie comparée
MAY	T	Zoologie (Orsay)	CAMUS	T	Physiologie Vég. (B.M.P.V.)
CHOQUET	T	Théorie des fonctions et Topologie	CASTAIN	T	Physique (Orsay)
FELDMANN	T	Biologie Végétale marine	CURIEN	T	Minéralo. et Cristallog.
GUINIER	T	Physique des Solides (Orsay)	MOYSE	T	Physique Vég. (Orsay)
			NOIROT	T	Evolution des Etres Org.
			PANNETIER	T	Chimie générale (Orsay)
			POSSOMPES	T	Zoologie
			PULMANN	T	Chimie théorique

TEILLAC	T	Physique Nucl. et Radio-activité	M ^{me} COUTURE	T	Thermodynamique et Méc. Physique
TONNELAT	T	Biologie Physico-chim.	ELLENBERGER	T	Géologie appli. sur le terr.
VILLE	T	Econométrie	FRANC		Biol. Animale (P.C.B.)
WILLEMART	T	Chimie (P.C.B.)	SCHNELL		Botanique tropicale (Orsay)
DODE	T	Chimie (Orsay)	STOLKOWSKI		Physiologie générale
FREYMANN	T	Recherches physiques	ACHER		Chimie Biol. (Orsay)
GUINOCHET	T	Biol. Vég. (S.P.C.N. - Orsay)	BAUDOUIN		Biologie animale (P.C.B.)
ROLLET	T	Chimie (P.C.B.)	BEAUMONT		Biologie anim. (S.P.C.N.)
Mlle JOSIEN	T	Chimie (S.P.C.N.)	BLAMONT	T	Géophysique Ionosphère
CHEVALLEY	T	Géométrie algébrique et théorie des groupes	BOURREAU		Botanique
ARNOULT	T	Electronique (Orsay)	CURIE D.		Physique (M.C.P.)
CHAPELLE	T	Physique (Orsay)	DURAND-DELGA		Géologie
DELANGE	T	Mathématiques (Orsay)	FREON	T	Chimie organique (Orsay)
DENY	T	Mathématiques Gén. (Orsay)	HELLER	T	Physiologie végétale
GERMAIN	T	Mécan. théor. des fluides	TORTRAT	T	Calcul des Probabilités
LUCAS G.	T	Géologie	CAILLEUX		Géologie (S.P.C.N.)
ALLARD	T	Chimie Physique	MAGNAN	T	Physique (S.P.C.N.)
BERTHELOT	T	Phys. Fondamentale des Hautes Energies (Orsay)	DAUDEL	T	Mécanique ondulatoire appl. à la Chim. Théor. et à la Phys. Nucléaire
BRICART	T	Météorologie et phys. de l'Atmosphère			Biol. Végétale (S.P.C.N.)
M ^{me} ALBE-FESSARD	T	Psychophysiologie	Mlle FOURCROY		
FRIEDEL	T	Phys. des Solides (Orsay)	M ^{me} CHOQUET-BRUHAT	T	Méc. Analytique et Méc. céleste
M. JULIA	T	Etudes des Moléculaires naturelles complexes	Mlle VEIL		Physiologie Générale
LENDER	T	Biol. Animale (S.P.C.N. - Orsay)	I. WOFF	T	Microbiologie
MAGAT		Physico-chimie des radio-éléments	SIESTRUNCK	T	Mécan. Phys. et Expérim.
Mlle QUINTIN	T	Electrochimie	LACOMBE	T	Métallur. des métaux Nucl.
MONOD	T	Chimie du métabolisme	BROCHARD	T	Physique P.C.B. (Orsay)
BENOIT	T	Physiol. Anim. (Orsay)	CABANNES	T	Mécanique générale
DE POSSEL	T	Analyse numérique	LESIEUR	T	Mathématiques M.P.C. (Orsay)
CHARLOT	T	Chimie analytique			
HAISSINSKY	T	Radiochimie	MAZET	T	Mécanique générale (Orsay)
LEMEÉ	T	Physiol. Vég. (B.M.P.V. - Orsay)	CAIRE		Géographie phys. et Géol. Dynamique
GUERIN	T	Chimie (M.P.C. - Orsay)	COMOLET	T	Mécanique des Fluides
CHATELET M.	T	Chimie (P.C.B.)	CORABEUF		Physiologie Animale
JEAN	T	Physique Nucléaire (Orsay)	DELLOUE		Physique de l'exosphère
MATTIER	T	Physique (N.P.C.N.)	GORENFLOT		Botanique II (Orsay)
MICHEL L.		Phys. Théor. des Hautes Energies (Orsay)	HOUILLON		Biologie Animale (P.C.B.)
BERGERARD	T	Zoologie (Orsay)	JULLIEN J.		Chimie (P.C.B.)
BERTIN	T	Electronique (Orsay)	MALGRANGE	T	Tech. Math. de la Phys.
BOUSSIÈRES	T	Chimie des Radioéléments (Orsay)	OLIVIER		Antropologie
			NOZERAN	T	Botanique II (Orsay)
			BLANG-LAPIERRE		Physique ENS. (Orsay)
			CHEVAUGEON	T	Botanique (Orsay)
			KAHANE	T	Mathématiques (Orsay)
			SAMUEL	T	Math. ENS. féminines
			KOURGANOFF	T	Astronomie (Orsay)
			THIRY	T	Mécanique céleste

Secrétaire général R. POUILLAIN

REMERCIEMENTS

Les recherches exposées ici font partie d'une série de travaux entrepris au laboratoire central de l'hôpital Beaujon, sous la direction du Professeur René FAUVERT. Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre respectueuse reconnaissance pour l'honneur qu'il nous a fait en nous confiant ce sujet.

Nous remercions le Professeur E. LE BRETON qui nous a fait le grand honneur d'accepter la présidence de cette thèse. Elle nous a dirigée avec tant de bienveillance et d'autorité patiente que nous lui en garderons toujours une profonde reconnaissance.

Le Professeur F. MOREL nous a constamment guidée au cours de ce travail. Nous lui exprimons toute notre gratitude pour l'aide efficace et précieuse qu'il nous a sans cesse prodiguée.

Que le Professeur B.N. HALPERN, sous la direction de qui nous avons travaillé tant d'années, veuille bien trouver ici l'assurance de notre vive reconnaissance pour l'enseignement qu'il nous a dispensé et qui nous a permis de réaliser ce travail.

Nous exprimons à Monsieur le Professeur GRABAR qui nous a prodigué conseils et encouragements, notre affectueuse reconnaissance.

Nous tenons à remercier Monsieur PASCAUD qui a bien voulu accepter de faire partie du jury de cette thèse.

A tous ceux qui par leur sympathie, leur confiance ou leur aide, nous ont permis de persévérer dans notre travail, nous exprimons notre reconnaissance et notre attachement.

MÉMOIRES ORIGINAUX

ÉTUDE QUANTITATIVE DE L'ÉPURATION SANGUINE DE LA B. S. P. (Phénoltétrabromophtaléine-disulfonate de sodium) CHEZ LE RAT

par Gabrielle BOURDON (Paris)

INTRODUCTION

Le foie est capable d'extraire du sang, à peu près électivement, un certain nombre de substances exogènes, et de les utiliser diversement.

L'étude de ces épurations sanguines permet, dans des conditions expérimentales précises, d'obtenir des informations sur la capacité fonctionnelle de l'organe et l'état de la circulation sanguine intra-hépatique, ainsi que d'explorer une fonction déterminée.

Suivant leur destin, on peut répartir en trois groupes les produits employés.

Les particules inertes et les colloïdes sont exclusivement captés par le système réticulo-endothélial. Lorsque la dose injectée n'est pas excessive, le rôle des cellules de Küpffer, en raison de la masse et de la riche vascularisation du foie, devient prépondérant. On y retrouve de 90 à 95 % de la quantité injectée, comme l'ont montré HALPERN et ses collaborateurs (1951).

Dans ces conditions, la cinétique de leur disparition sanguine dépend, en dehors de la nature des particules ou des micelles et de leur taille, de la concentration initiale, de l'activité granulopexique des cellules de Küpffer, du débit sanguin sinusoïdal et de la masse du foie. C'est au Professeur B. N. HALPERN et à ses collaborateurs, BIOZZI, BENACERRAF et STIFFEL que l'on doit d'avoir formulé les lois quantitatives qui régissent ce phénomène (1951), (1953), (1954).

Dans certaines conditions expérimentales, si la dose utilisée est inférieure à une dose limite, ni l'activité granulopexique, ni la concentration initiale n'interfèrent plus. L'épuration sanguine des particules — ou du colloïde — ne dépend plus que d'un seul facteur, le débit sanguin sinusoïdal, qui détermine l'efficacité de la captation. Connaissant la vitesse d'épuration et l'efficacité, on en peut déduire le débit sanguin transhépatique total.

Les préparations employées pour la mise au point de cette technique fondamentale furent l'or colloïdal radioactif dont les promoteurs furent SHEPPARD et ses collaborateurs, (1947), (1950), le phosphate de chrome colloïdal, particulièrement étudié par DOBSON et ses élèves (1952), et beaucoup plus tardivement, les agrégats complexes marqués par l'iode radioactif de sérum albumine modifiée par la chaleur proposés par HALPERN et ses collaborateurs (1956).

L'emploi du galactose pose des problèmes différents. Ce corps s'accumule dans la cellule parenchymateuse où il est électivement transformé par un système enzymatique spécifique. Son épuration sanguine est donc liée, indépendamment des facteurs habituels (débit sanguin et masse hépatique, dose injectée), au métabolisme intra-hépatique des hydrates de carbone. L'interprétation en est compliquée par l'interférence d'une élimination urinaire, proportionnelle à la concentration sanguine. Dès 1944, DOMINGUEZ et POMERÈNE, dans un remarquable travail expérimental, se sont efforcés de déterminer les parts respectives qui appartiennent à ces différents paramètres.

Un troisième groupe comprend les substances qui, après avoir été captées par le parenchyme hépatique, ont la faculté d'être excrétées dans la bile. Suivant leur nature, deux mécanismes très différents président à ce transfert. Ce peut être une simple diffusion, et le produit est retrouvé dans la bile à une concentration voisine de celle qu'il avait dans le sang. Par contre, pour certains corps, et particulièrement des colorants, les concentrations biliaires sont plusieurs centaines de fois supérieures à la concentration sanguine. Un processus sécrétoire actif est intervenu. C'est à HÖBER et à ses collaborateurs que l'on doit l'étude systématique qui permet de dégager clairement ces résultats (1930).

Deux colorants furent retenus comme étant les plus complètement et les plus rapidement éliminés par la voie transhépatique.

La tétra-iodotétrachloro-fluorescéine (rose Bengale) étudiée par DELPRAT (1924-1925), et largement utilisée par FIESSINGER et ses collaborateurs (1934), fut abandonnée à cause de ses propriétés photosensibilisatrices et hémolytiques. Ce n'est qu'au cours de ces dernières années, depuis qu'on en peut marquer la molécule par l'iode radioactif, ce qui autorise l'emploi de très faibles doses, qu'on en a repris l'usage.

Mais la phénol-tétrabromophthaléine disulfonate de sodium (B.S.P.), proposée par ROSENTHAL et WHITE (1925) dut à sa complète innocuité aux doses exploratrices d'être l'objet d'investigations multiples tant en clinique médicale qu'en physiologie expérimentale.

Deux techniques furent concurremment employées :

— la perfusion continue, à taux constant, préconisée par BRADLEY, INGELFINGER, BRADLEY et CURRY (1945) au cours de laquelle la concen-

tration sanguine atteint, plus ou moins vite, une valeur qui demeure constante. A cette période d'équilibre, la quantité de colorant extraite du sang est évidemment équivalente à celle qui est perfusée. Les auteurs calculent une clearance fractionnelle qu'ils corrigent par un coefficient d'efficacité hépatique (ou pourcentage de B.S.P. extraite de l'unité de volume de sang en un seul passage à travers le foie) pour obtenir le volume sanguin total qui irrigue le foie dans l'unité de temps;

— l'injection d'une dose unique montra que la décroissance de la concentration sanguine initiale s'effectue exponentiellement en fonction du temps. GOODMAN (1952), LAVERS, COLE, KEETON, GEPHARDT et DYNIEWICZ (1949) remarquant que les courbes obtenues présentaient souvent deux segments, proposèrent une interprétation de leurs résultats qui fut reprise, beaucoup plus tard, par CAROLI, NYS et ALLIOT (1956). Ils suggérèrent que la première partie de la courbe, la plus rapide, correspondait vraisemblablement à l'accumulation du colorant dans le foie et que le segment le plus tardif et le plus lent, qui se trouvait le plus influencé par les états pathologiques, devait être en rapport plus étroit avec l'élimination biliaire.

La multiplicité des travaux publiés souligne les difficultés rencontrées lorsqu'il fallut établir une relation précise entre l'épuration sanguine de la B.S.P. et les processus qui la déterminent.

L'étude des faits expérimentaux rapportés par les divers auteurs montre qu'au moins trois principaux facteurs régissent le sort de la B.S.P. injectée dans le sang :

- la répartition du colorant dans un espace déterminé;
- sa captation par les tissus, et singulièrement par le foie;
- son élimination biliaire.

Plus récemment, la notion d'une modification de la molécule au contact des tissus est venue compliquer le problème.

I. — *L'espace de diffusion de la B.S.P. :*

L'injection simultanée de B.S.P. et de bleu d'Evans au chien permit à COHN, LEVINE et KOLINSKI (1948) de reconnaître que les volumes de répartition de ces deux substances étaient de même ordre. HORWATH et ses collaborateurs retrouvèrent ces résultats (1953) que GOODMAN avait noté chez l'homme (1952).

Pratiquement donc, l'espace de diffusion de la B.S.P. correspond au volume plasmatique.

L'explication en est simple. DELCOURT, ayant entrepris l'étude systématique du comportement des phatléines vis-à-vis des protéines plasmatiques, montra, après KUNKEL et PEZOLD, que les phatléines halogénées (sauf le dichlorophénol) s'unissent exclusivement à l'albumine. La formation d'un tel complexe obéit à une évidente sélectivité, et, en certains cas tout au moins, elle est réversible (1958).

On ne connaît pas exactement le nombre de molécules de colorant que peut admettre une molécule d'albumine, mais les recherches de PEZOLD (1953) ont prouvé qu'une concentration de plus de 3 grammes pour mille est nécessaire pour qu'apparaisse de la B.S.P. libre.

II. — *La captation de la B.S.P. par les tissus :*

Le mécanisme qui préside au transfert de la B.S.P. du plasma dans la cellule est encore inconnu.

CANTAROW et WIRTZ (1941) notèrent les premiers qu'il existe une différence significative entre la vitesse d'épuration sanguine de ce colorant et sa vitesse d'excrétion biliaire. Ils en conclurent que cela impliquait, précédemment à l'élimination, une accumulation qu'ils situèrent naturellement dans le foie.

La participation des cellules de Küpffer à l'accumulation hépatique de la B.S.P. fut longtemps controversée. On sait aujourd'hui que leur activité granulopexique ne joue aucune rôle dans ce phénomène.

KREBS et BRAUER (1949) en apportèrent la preuve directe. Sacrifiant des rats très rapidement après l'injection du produit marqué par le soufre radioactif, ils virent que l'activité se concentre uniquement dans les cellules du parenchyme hépatique.

Cependant, KLEIN et LEVINSON (1933) avaient observé que l'injection préalable d'encre de Chine retarde considérablement chez le chien, l'épuration sanguine de la B.S.P. et avaient attribué ce retard au « blocage » des cellules de Küpffer par le carbone.

La découverte, par HALPERN, BENACERRAF et BIOZZI de la cytotoxicité de l'encre de Chine, attribuée au colloïde organique qui stabilise la suspension de carbone, résolut cette apparente contradiction (1953).

C'est à ZILVERSMIT et SHORE (1954) qu'il appartient d'en faire la démonstration expérimentale.

Ils montrèrent qu'un filtrat d'encre de Chine ordinaire (ne contenant plus de carbone, mais de même pH que l'encre originelle) détermine une augmentation de la rétention sanguine de la B.S.P. en tous points comparable à celle obtenue avec l'encre elle-même.

Au contraire, une encre reconstituée, dans les mêmes proportions que le produit commercial, à partir d'une suspension de carbone stabilisée par de la gélatine, ne cause aucune modification.

BOURDON et FAUVERT (1958) confirmèrent ces résultats et montrèrent en outre que le blocage préalable du système réticulo-endothélial par d'autres corps (tel le saccharate d'oxyde de fer) n'influence pas l'épuration sanguine de la B.S.P. Ils précisèrent également que ce phénomène n'est pas modifié par l'épuration concomitante de l'encre de Chine ou du saccharate d'oxyde de fer, et qu'inversement, l'épuration sanguine de ces deux substances n'est pas perturbée par la présence de B.S.P.

Lorsque BRADLEY (1945) exposa sa technique de mesure du débit sanguin transhépatique, il postulait que la quantité de B.S.P. extraite du plasma à la période d'équilibre l'était presque entièrement au niveau du foie. Quitte à admettre que la fixation de la B.S.P. par d'autres tissus, faute d'une possibilité d'élimination, devait cesser rapidement par « saturation » des territoires intéressés.

En 1947, COHN, LEVINE et STREICHER prouvèrent que la fixation extra-hépatique du colorant existe, et de plus, qu'elle croît avec le taux de la perfusion.

Chez des chiens hépatectomisés et éviscérés, ils réussirent à maintenir constante la concentration sanguine de la B.S.P. en dépit d'une perfusion continue. En pratiquant une injection unique dans les mêmes conditions expérimentales, ils virent que quelle que soit la quantité injectée, 50 % de la B.S.P. avait disparu du sang au cours des 50 minutes qui suivaient.

Reprenant ces essais en 1948, avec KOLINSKI, sur des chiens hépatectomisés, éviscérés et néphrectomisés de surcroît, ils purent à nouveau constater que l'augmentation du taux de la perfusion s'accompagnait de l'accroissement de la quantité de B.S.P. disparue.

Ils conclurent formellement à l'impossibilité de « saturer » la sortie extra-hépatique de la B.S.P., et partant, considérèrent que la mesure du débit sanguin transhépatique dans ces conditions était, par sa technique même, sujette à une erreur inévitable.

Plus tardivement, SELKURT (1953), reprochant à ces auteurs la brutalité de leur intervention, reprit leurs expériences dans des conditions qu'il jugea plus physiologiques. Un shunt facultatif reliant la veine jugulaire à la veine splénique permet d'exclure le foie par simple occlusion de la veine porte et de l'artère hépatique. Il évite ainsi les troubles circulatoires qu'aurait produit, sans cette dérivation, la brusque hypertension portale. Cette méthode, employée chez le lapin, lui permit de confirmer les conclusions de COHN et de ses collaborateurs. Il évalua à 11 % de la quantité administrée la fraction de la B.S.P. disparue hors de la bile et du foie.

Des méthodes analogues donnèrent des résultats comparables à WERNER, HORWATH et leurs collaborateurs (1952), (1953).

La répartition exacte de la B.S.P. dans les différents tissus a été étudiée par BRAUER, PESSOTTI et KREBBS (1955) au terme d'une perfusion de B.S.P. marquée par le soufre radioactif.

Chez le chien normal, 34 à 43 % de la quantité perfusée sont retenus dans l'organisme, 21,8 % étant accumulés dans le foie et 17,5 % dans les autres tissus.

D'autre part, si l'équilibre entre la concentration sanguine et la concentration tissulaire est relativement rapide pour les tissus capables de capter une grande quantité de colorant par unité de poids, en revanche, pour ceux qui ont un faible pouvoir de fixation, comme les muscles striés, il est beaucoup plus lent à s'établir. Après 67 minutes de perfusion, la concentration dans les muscles de l'abdomen est de 2,75 et 2,57 mg par kilogramme. Elle atteint 5,07 et 6,02 mg après 189 minutes.

SELKURT (1953) avait également montré que la différence entre les concentrations en B.S.P. dans les artères périphériques et la veine cave inférieure demeure constante pendant toute la durée de la perfusion. Ce qui implique une extraction continue du colorant par les territoires extra-hépatiques.

Chez deux chiens préalablement intoxiqués par le CCl_4 , BRAUER et ses collaborateurs observèrent que la réduction de l'élimination biliaire détermine, dans les mêmes conditions de perfusion, une concentration sanguine double de celle normalement obtenue. La quantité totale de colorant retenue dans l'organisme s'élève alors à 84 % de la

quantité perfusée, la fixation intra-hépatique étant de 55 % et 29 % se répartissant dans les autres tissus (1955).

Ces résultats montrent qu'il est possible d'étendre à l'animal vivant les notions que BRAUER et PESSOTTI (1949) avaient tiré de leurs premiers essais « in vitro ».

Des fragments de tissus prélevés sur des rats sont plongés dans la solution de Krebs additionnée de quantités variables de B.S.P. (de 5 à 100 mg par litre), et agités dans l'appareil de Warburg à température constante en milieu oxygéné.

Les échanges entre le tissu et le milieu aboutissent à un état d'équilibre caractérisé par les faits suivants :

— Tous les tissus fixent la B.S.P. à un taux constant, indépendant de la concentration initiale, et pour certains d'entre eux (rein, poulmon, diaphragme), dans les proportions presque équivalentes à celles observées pour le foie lui-même.

— Par passage dans des bains successifs, un gramme de foie parvient à fixer jusqu'à 8 mg de B.S.P.

— Le phénomène est indépendant des variations du pH, de 5 à 8,5 en tampon phosphate, ainsi que des changements de température entre 22 et 49° centigrades.

— Ni les poisons enzymatiques tels que le KCN, ni l'anoxie ne l'influencent. L'intoxication préalable du rat par le CCl₄ est également sans effet.

Des essais réalisés parallèlement par perfusion d'un foie isolé de rat aboutirent aux mêmes résultats.

BRAUER et ses collaborateurs en conclurent que le processus de captation de la B.S.P. par les tissus est d'ordre physico-chimique et consiste vraisemblablement en la formation d'un complexe entre le colorant et les protéines tissulaires.

Chez l'animal vivant, outre la concentration sanguine, différents facteurs dépendants de l'organe ou du tissu considéré, déterminent localement l'extraction de la B.S.P.

Les modalités de l'irrigation sanguine jouent un rôle primordial. Comme y insiste BRAUER (1957), il faut distinguer entre le débit sanguin total à travers l'organe et la distribution topographique du flux sanguin intra-organique. A débit sanguin équivalent, l'extraction dépendra de la surface de contact entre le sang et les tissus.

Pour BRAUER, la structure sinusoïdale du foie et l'importance de son débit sanguin suffisent à expliquer la part prépondérante que prend cet organe à l'épuration sanguine de la B.S.P.

BRADLEY, INGELFINGER, BRADLEY et CURRY (1945) ont défini quantitativement l'efficacité de l'extraction hépatique de la B.S.P. Au cours de perfusions à taux constant, ils admettent que la concentration dans les veines périphériques, à la période d'équilibre où elle demeure constante, est identique à la concentration portale. Mesurant, par cathétérisation d'une veine sus-hépatique, la concentration résiduelle après traversée du foie, ils expriment en pourcentage de la concentration dans la veine porte la différence entre ces deux valeurs.

Il est probable que ce coefficient d'efficacité varie avec la concentration périphérique. Mais les résultats rapportés sont contradictoires.

Pour la plupart des auteurs, dont BRADLEY (1946), SHERLOCK et

ses collaborateurs (1950) et surtout CASTENFORS, ELIASCH et HULTMAN (1959), il existe une relation inverse entre la concentration sanguine et l'efficacité.

Par contre, WERNER et HORWATH (1952) n'ont pas retrouvé cette relation. Ils insistent sur les variations spontanées qu'ils observent dans l'efficacité, d'autant plus nombreuses que la période d'observation est plus longue. Ils pensent que les variations notées par les précédents auteurs sont probablement déterminées par ces fluctuations. CASTENFORS et ses collaborateurs reprennent cet argument et soulignent que l'étude des effets d'un changement de la concentration allonge considérablement l'essai. Il faut, à chaque modification attendre que s'établisse le nouvel état d'équilibre.

Systématiquement étudiée sur le foie isolé de rat par BRAUER, HOLLOWAY et LEONG (1959), l'influence des variations du débit trans-hépatique est connue avec précision.

L'efficacité est supérieure à 90 % lorsque le débit est inférieur à 1 ml par minute et par gramme de foie. S'il atteint 1,5 ml, elle est de 75 %. Pour 2 ml, elle tombe à 65 % et avoisine 50 % quand le débit s'élève à 3 ml par minute et par gramme de foie.

Cette chute relative de l'aptitude du parenchyme hépatique à fixer la B.S.P. ne traduit pas une « saturation » du tissu par le colorant. Comme le signalait déjà BRAUER (1950), il est possible d'accumuler des quantités de colorant bien supérieures à celles qui déterminent la chute de l'efficacité, à la seule condition de perfuser longtemps à des taux faibles. Et ceci sans observer une baisse de la capacité d'extraction. L'auteur conclut que ce qui importe, c'est moins la quantité totale perfusée que le taux d'administration.

L'importance de la distribution topographique du flux hépatique n'a pas été quantitativement mesurée.

Les clichés publiés par HANZON (1952) la suggère en montrant que la fluorescence déterminée par l'accumulation d'uranine dans le lobule hépatique du rat s'étend progressivement et qu'elle paraît plus intense au centre du lobule qu'à la périphérie.

Le très beau travail de DANIEL et PRICHARD (1951), montre que chez le rat normal, l'injection d'une substance opaque aux rayons X dans le système porte peut donner une image complète du foie, ou n'irriguer que le centre des lobules. Ces images parcellaires sont de règle après l'hépatectomie partielle, il semble que la substance opaque traverse rapidement les gros vaisseaux, injecte la région centrolobulaire, mais ne parvient pas à la périphérie du lobule où la circulation paraît réduite.

III. — *L'élimination biliaire de la B.S.P. :*

C'est en particulier à HÖBER et TITAJEW (1930) qu'on doit, par leurs travaux sur le foie isolé de grenouille, d'avoir précisé les conditions dans lesquelles certains colorants sont éliminés dans la bile.

Ils ont montré l'importance de la nature du corps essayé : les colorants acides et diffusibles sont éliminés et diversement concentrés, tandis que les colorants basiques demeurent plutôt fixés sur le cytoplasme.

Ils ont également décrit le caractère limité du processus : l'ac-

croissement de la concentration du colorant dans le perfusé n'entraîne pas une augmentation directement proportionnelle de la concentration biliaire.

La vitesse d'apparition dans la bile de la substance injectée a été mesurée directement par HANZON (1952) à l'aide de l'uranine, chez le rat. Ce corps pénètre dans la cellule hépatique 22 secondes après son injection intra-veineuse, et 22 secondes plus tard, la fluorescence apparaît dans les canalicules biliaires.

La B.S.P., colorant acide et diffusible, est éliminée rapidement à de fortes concentrations : 300 fois celle du perfusé, dans la bile du foie isolé de rat, suivant BRAUER, PESSOTTI et PIZZOLATO (1951), et 900 fois celle du sang au même instant chez le rat vivant comme l'ont constaté BOURDON et FAUVERT (1958).

Cette activité est limitée, BRAUER et PESSOTTI en particulier, ont montré que la concentration biliaire de la B.S.P. n'excède pas $9,3 \text{ g} \pm 0,9$ par litre, chez le chien (1950).

Elle est réduite lors de certaines atteintes de la cellule hépatique. L'intoxication par le CCl_4 la fait décroître.

La quantité totale de B.S.P. éliminée dans l'unité de temps dépend, dans une certaine mesure, du débit biliaire correspondant. Les facteurs capables d'altérer ce dernier l'influencent, sans nécessairement modifier la concentration. On peut citer la chute brusque et importante du débit sanguin transhépatique (BRAUER, LEONG et HOLLOWAY, 1954), l'hypoxie (CHARDON, NEVERRE et JEANOEL, 1949) et l'intoxication par le KCN (VANLERENBERGHE, 1959) qui, en réduisant le débit biliaire, diminuent l'élimination de la B.S.P. Inversement, un brusque accroissement du débit, sous l'influence du déhydrocholate de sodium par exemple, peut l'augmenter, comme l'ont montré CANTAROW et WIRTS (1945) ainsi que BOURDON et FAUVERT (1960).

IV. — Les « métabolites » de la B.S.P. :

La similitude des colorations, l'analogie des propriétés entre la B.S.P. recueillie dans la bile et celle injectée firent croire longtemps à l'identité des deux produits.

Un fait, signalé par BRAUER, PESSOTTI et KREBS (1955) qui utilisaient une B.S.P. marquée par le soufre radioactif, montra qu'on pouvait les différencier.

Les chiffres qui expriment la concentration d'un même prélèvement de bile, s'ils résultent d'une mesure de radioactivité, dépassent significativement — et dans des proportions variables suivant l'échantillon — ceux parallèlement obtenus par colorimétrie.

Comme il n'existe pas de soufre radioactif libre, ni de sulfates inorganiques en excès, ces résultats ne peuvent s'expliquer par une destruction de la molécule. Ils admirent donc que le colorant retrouvé dans la bile diffère de la substance injectée.

Dans deux publications ultérieures, KREBS et BRAUER (1957) (1958) montrèrent que si la B.S.P. radiomarquée s'avère chromatographiquement homogène, le colorant recueilli dans la bile est décomposable en trois constituants. Ceux-ci sont caractérisés par des vitesses de migration variables, que les auteurs désignèrent, par ordre de mobilité

décroissante par 1, 2, et 3. La fraction 1 se déplace comme la B.S.P. cristallisée.

Ces trois corps ont le même spectre d'absorption dans le visible (maximum : 5780). Mais à une même intensité de la coloration développée en milieu alcalin, correspond, pour les composés 2 et 3, une quantité de colorant plus élevée que dans le cas du produit cristallisé (ou du composé 1). Les concentrations obtenues par la méthode colorimétrique doivent être respectivement multipliées par des coefficients 1,225 et 1,127 pour les fractions 2 et 3, pour que les quantités déterminées correspondent aux valeurs trouvées par les mesures de radioactivité.

Ces corps ne sont pas des glycuconjugués. JAWITT, WHEELER, BAKER et RAMOS (1959) ainsi que GRODSKY, CARBONE et FANSKA (1959) ont établi qu'il s'agit de conjugués mercaptiques de la B.S.P. avec le glutathion ou les amino-acides qui le constituent et particulièrement la cystéine.

Après avoir isolé par chromatographies successives chacun des trois constituants biliars, KREBS (1959) les injecte isolément au rat.

Au cours des dix premières minutes, le composé 1, comme la B.S.P. qui lui est semblable, est extrait du plasma beaucoup plus rapidement que le composé 3, et celui-ci disparaît plus vite que le composé 2. Ultérieurement, les courbes d'épuration sanguine évoluent parallèlement.

Après l'injection du composé 1, comme après celle de la B.S.P., les trois constituants apparaissent dans la bile. A celle du composé 3 succède l'excrétion des fractions 2 et 3. Le composé 2 est éliminé sans modification.

L'analyse des échantillons de bile recueillis de 4 en 4 minutes a montré à KREBS et BRAUER (1957) que la distribution relative des différentes fractions évolue en fonction du temps. Elle est également modifiée par les altérations de la cellule hépatique. KREBS et BRAUER ont précisé ces notions au cours d'essais ultérieurs (1960).

Après avoir provoqué, consécutivement à l'injection de B.S.P., une stase biliaire de durée variable, ou réduit l'élimination biliaire du colorant par diverses atteintes de la cellule parenchymateuse (intoxication par le CCl_4 , exposition aux rayons X), ils ont observé un accroissement de la proportion relative du composé 2 aux dépens de celle du composé 3.

Comme d'autre part, l'apparition du composé 2 succède à l'injection du dérivé 3, ils en concluent que ce corps est produit en quantités d'autant plus grandes, que le temps de contact entre la fraction 3 et le parenchyme hépatique est plus long.

Dans ces conditions, la formation des dérivés, qui ne dépendrait plus directement de l'activité de la cellule hépatique, semble à ces auteurs un critère beaucoup moins sensible de l'état fonctionnel du parenchyme que l'élimination biliaire du colorant.

CHARBONNIER et BRISBOIS sont plus catégoriques (1960). Pour eux, l'existence des dérivés de la B.S.P. est indépendante de l'élimination biliaire de cette substance. Elle résulterait d'une modification de la molécule du colorant au contact des protéines tissulaires ou plasmiques.

De fait, s'ils mélangent des quantités variables de B.S.P. à du sérum, ils observent la formation d'un composé semblable au dérivé 3 de KREBS et BRAUER. Le phénomène, indépendant de la température et du temps de contact, est caractérisé par sa limitation. La quantité absolue de dérivé formée ne dépend plus de la dose de B.S.P. au-delà d'un certain taux. Sa proportion relative décroît jusqu'à ne plus représenter que 10 à 15 % de la B.S.P. totale retrouvée après chromatographie.

De même, HIGGINS, FOULK et BOLLMANN (1960) décèlent dans le sérum de rats hépatectomisés des quantités de dérivés de la B.S.P. dans les proportions de 3,3 à 9 % de la quantité de colorant présente.

ROSENEAU, CARBONE et GRODSKY (1959) retrouvent les fractions modifiées dans les urines du chien hépatectomisé.

Mais si l'apparition dans la bile des métabolites de la B.S.P. n'est pas directement reliée à l'activité du parenchyme hépatique, leur existence n'est pas, pour autant, négligeable. Elle pose, dans l'immédiat, un autre problème, celui de leur interférence dans l'épuration sanguine du colorant.

Lors de leurs premières expériences sur des chiens recevant une perfusion de B.S.P. marquée par le soufre radioactif, BRAUER, PESSOTTI et KREBS (1955) avaient effectué simultanément dans le sérum des dosages colorimétriques et des mesures d'activité. Au cours de 14 déterminations, contrairement à ce qu'ils observaient dans la bile, ils ne décelèrent aucune différence entre les deux séries de résultats.

Mais en reprenant ces investigations, KREBS (1959) a montré qu'à la 10^{me} minute qui suit l'injection de 5 mg de B.S.P. à des rats de 300 g, on pouvait isoler des fractions analogues aux dérivés biliaries 2 et 3 dans le sérum de ces animaux.

A la 15^{me} minute, 17 % environ de la dose injectée restent dans le sang, 40 % de cette quantité sont constitués par la fraction 1 (semblable à la B.S.P. injectée), 40 % également par la fraction 3, et 20 % par la fraction 2.

La concentration du dérivé 2 ne baisse que très lentement au cours des minutes consécutives. Par contre, celle du constituant 3 est presque nulle à la 60^{me} minute. La fraction 1 disparaît suivant une vitesse intermédiaire.

La courbe résultante, qui traduit la décroissance de la concentration du colorant total, présente un ralentissement surtout sensible après la 30^{me} minute. Elle évolue alors parallèlement à celle qui rend compte de la disparition de la fraction 1.

L'auteur attribue ce ralentissement à la prédominance croissante de la fraction 2.

Les difficultés qu'apportent ces résultats à l'interprétation de l'épuration sanguine d'une dose unique de B.S.P. sont évidentes. Il faut souligner cependant, qu'elles n'apparaissent que tardivement, à un moment où la concentration sanguine n'est plus, dans les conditions expérimentales précisées, que de l'ordre de 6 % de sa valeur initiale.

Au contraire, les inconvénients de la technique de perfusion sont manifestes dès le début de l'expérience :

— La clearance fractionnelle évaluée par cette méthode, est une mesure globale. Elle ne permet pas de distinguer les parts respectives

des différents facteurs d'accumulation extra et intra-hépatique et de l'élimination biliaire.

— La fixation extra-hépatique de la B.S.P., effective pendant toute la durée de l'essai, est essentiellement variable. Elle dépend du taux de la perfusion et des perturbations possibles dans l'accumulation intra-hépatique ou l'élimination biliaire du colorant.

— Enfin, plusieurs auteurs ont insisté sur la difficulté d'atteindre effectivement l'équilibre de la concentration (condition indispensable au calcul exact de la clearance fractionnelle). Les modifications spontanées du débit hépatique qui en sont vraisemblablement responsables étant elles-mêmes multipliées par la durée relativement longue de l'essai.

Dans ces conditions, il est apparu qu'il pouvait être fructueux de reprendre l'étude systématique de l'épuration sanguine d'une dose unique de B.S.P.

Le travail de LAVERS, COLE, KEETON, GEPHARDT et DYNIEWICZ (1949), les interprétations de CAROLI, NYS et ALLIOT (1956) justifiaient le choix de cette technique en faisant entrevoir la possibilité de distinguer effectivement sur la courbe la prépondérance successive des deux phénomènes d'accumulation tissulaire et d'élimination biliaire.

Enfin, les résultats que cette méthode simple et rapide a permis d'obtenir à DOMINGUEZ et POMERENE (1944) avec le galactose, à HALPERN et à ses collaborateurs dans l'étude de l'activité granulopexique du système réticulo-endothélial (1951 à 1955), incitaient à cette tentative.

MATERIEL ET METHODES

1. — LES ANIMAUX.

Des rats Wistar, fournis par l'Alimentation Equilibrée (Commeny, Allier) et nourris avec les produits de synthèse Sorolabo, ont été employés pour tous les essais. On les a choisis de 120 à 200 g dans la plupart des expériences, sauf en cas d'interventions importantes où l'on a préféré les animaux de 300 à 350 g.

Les prélèvements sanguins sont faits dans le sinus veineux rétro-orbitaire, suivant la technique décrite par HALPERN (1951), et les injections intra-veineuses dans la veine dorsale du pénis.

Le Nembutal, en injection intra-péritonéale, à raison de 3,5 mg par fraction de 100 grammes de poids corporel, a été utilisé lorsque l'anesthésie était nécessaire.

Les animaux sont dans tous les cas, sacrifiés par saignée.

2. — LA B.S.P.

La phénoltétrabromophthaléine disulfonate de sodium (B.S.P.) est une phthaléine non fluorescente, dépourvue d'action photodynamique et de toxicité. Elle se présente comme un cristalloïde soluble dans l'eau. En milieu alcalin (pH 10), elle développe une coloration violette, caractéristique. On a utilisé dans ces essais la solution à 30 mg par ml, délivrée par les laboratoires ALLIOT.

a) Technique de l'épreuve :

La dose de B.S.P., diluée dans un volume constant de 0,5 ml par fraction de 100 g de poids corporel, est injectée dans la veine.

Les prélèvements sanguins, de 0,05 ml, sont effectués avec une pipette spéciale, rincée à l'héparine, 1, 2, 3, 4, 6, 10, 15 et 20 minutes après l'injection.

Si l'on prévoit une rétention anormale du colorant dans le sang, ils sont continués, de 10 en 10 minutes. Ils sont immédiatement dilués dans 1,8 ml de soluté de ClNa à 9 pour mille.

b) *Dosage :*

Il est fait colorimétriquement suivant les techniques classiques. On emploie l'électrophotomètre de Meunier, (écran 57). Après centrifugation (6 à 7 minutes) on décante 1,5 ml de surnageant. Le galvanomètre est réglé à 0 sur ce blanc. L'addition d'une goutte de solution de soude à 10 % développe la coloration caractéristique de la B.S.P. en milieu alcalin dont on évalue l'intensité. Une courbe d'étalonnage effectuée dans des conditions rigoureusement identiques, en présence de sang de rat, permet de convertir les chiffres donnés par l'appareil en microgrammes de B.S.P. par ml de sang. Des dilutions supplémentaires sont faites si cela est nécessaire, pour que les lectures se fassent toujours dans les limites de cette courbe. On évite soigneusement tout trouble du surnageant, ainsi que l'hémolyse.

3. — *LA B.S.P. RADIOMARQUEE :*

Délivrée par le centre anglais d'Amersham, cette B.S.P. est marquée par le soufre radioactif.

Il a été vérifié que son épuration sanguine ne diffère pas de celle de la B.S.P. ordinaire (graphique n° 9).

Dosage :

L'activité des rayons bêta du soufre est mesurée au compteur de GEIGER-MULLER.

a) *Dans les tissus :*

Le rat étant tué par saignée, les fragments à traiter sont immédiatement prélevés et placés dans des boîtes de Pétri à l'abri de l'air. On pèse aussitôt les organes entiers. Deux prélèvements permettent l'un, de connaître le poids sec du tissu, l'autre d'en mesurer l'activité. Ces derniers sont, dans un premier temps, finement dilacérés aux ciseaux, puis additionnés, pour les prélèvements de muscles, de 2 gouttes de solution de soude à 10 %, et pour les autres, de 2 gouttes de ClH dilué aux deux tiers, puis broyés au mortier. Ceci permet d'obtenir une suspension très fine et très homogène, condition indispensable à la rigueur de la mesure. Le mélange est enfin amené à un volume de 5 ml, par addition d'une solution de Tween 80 à 1 pour mille. On dépose 0,2 ml de la suspension sur une lamelle de verre ronde, contenue dans une cupule d'aluminium pour permettre les manipulations. Après un séjour de 3 heures à l'étuve à 37°, on laisse les préparations sécher complètement à la température du laboratoire. A poids sec constant, on mesure l'activité des préparations et on les pèse.

Contrôles :

On a établi un coefficient de correction pour la perte d'activité qui résulte de l'épaisseur du prélèvement.

A des suspensions de tissus correspondant à un poids sec terminal, pour 0,2 ml, de 0 à 20 mg, on ajoute une quantité de B.S.P. radiomarkée fixe. L'activité mesurée décroît régulièrement à mesure que le poids sec s'élève, de 0 à 20 mg. Ultérieurement, la décroissance est moins forte, mais la perte d'activité est si considérable (de 50 à 60 %) qu'on s'est efforcé de situer le poids sec des prélèvements entre 5 et 15 mg (pour 0,2 ml de suspension) alors que l'activité n'est réduite que de 10 à 30 %.

Un second coefficient de correction a été établi pour tenir compte, dans le calcul du poids sec du prélèvement de l'addition de soude ou de ClH. Des mesures faites sur des fragments additionnés de ClH dans les mêmes proportions que les prélèvements expérimentaux ont montré que les poids secs évalués dans ces conditions étaient majorés de 5 %. L'addition de soude majore de 0,2 mg le poids sec du prélèvement entier.

b) *Dans le sang :*

Chaque prélèvement sanguin est immédiatement dilué, sur la lamelle de

verre dans sa cupule d'aluminium, dans 0,2 ml de solution de Tween 80 à 1 pour mille.

L'activité mesurée est corrigée en fonction du poids sec du prélèvement.

Les résultats obtenus sont comparés à l'activité d'une solution de B.S.P. étalon préparée simultanément. Un dosage colorimétrique parallèle permet de convertir les mesures d'activité en concentration de B.S.P. en mg pour 100 g de tissu.

4. — L'OR COLLOIDAL RADIOACTIF.

Il est également fourni par le centre anglais d'Amersham.

La dose convenable à la mesure du débit sanguin sinusoidal hépatique a été déterminée en vérifiant que deux doses, l'une de 70 microgrammes d'or, l'autre 10 fois plus faible étaient extraites du sang à la même vitesse. Ce qui implique qu'elles sont l'une et l'autre, inférieure à la dose limite au-dessous de laquelle l'épuration du colloïde ne dépend plus que du débit sanguin transhépatique.

On a choisi la plus faible, soit 7 microgrammes, pour les essais réalisés, en s'assurant que l'activité était suffisante pour que les prélèvements puissent être mesurés de façon satisfaisante pendant au moins 6 minutes. Elle est injectée sous un volume constant de 0,5 ml par fraction de 100 g de poids corporel.

Les prélèvements sont effectués 30 secondes, 1, 2, 3, 4, 5 et 6 minutes après l'injection.

La mesure du coefficient d'efficacité :

On injecte, dans une veine mésentérique, sous anesthésie locale, la même dose que celle qui a été utilisée pour la mesure. Puis on effectue les prélèvements sanguins comme précédemment. On a par extrapolation les deux concentrations initiales. La première, qui correspond à l'injection intra-veineuse ordinaire, exprime la répartition de la dose totale dans la masse sanguine. La seconde, mesure la répartition dans la masse sanguine de la fraction qui n'a pas été captée par le foie. La différence de ces deux valeurs mesure l'efficacité d'extraction du foie sur le volume sanguin qui l'a traversé en une seule fois.

Le dosage :

Chaque prélèvement de sang est dilué dans 5 ml et l'activité est mesurée dans un compteur à scintillation.

Un échantillon étalon est préparé simultanément.

RESULTATS EXPERIMENTAUX

I. — ETUDE DE L'INFLUENCE DE LA DOSE INJECTEE SUR L'EPURATION SANGUINE.

DETERMINATION D'UNE HYPOTHESE DE TRAVAIL.

Huit groupes de 6 à 10 rats reçoivent respectivement des doses de B.S.P. de 0,5 à 15 mg par fraction de 100 g de poids corporel.

Consécutivement à l'injection de 0,5 à 4 mg, comme en témoigne le graphique n° 1, la décroissance de la concentration sanguine en fonction du temps suit une loi exponentielle. Si C_{t_1} et C_{t_2} représentent les concentrations sanguines aux temps t_1 et t_2 , l'équation

$$C_{t_2} = C_{t_1} \cdot 10^{-K(t_2 - t_1)}$$

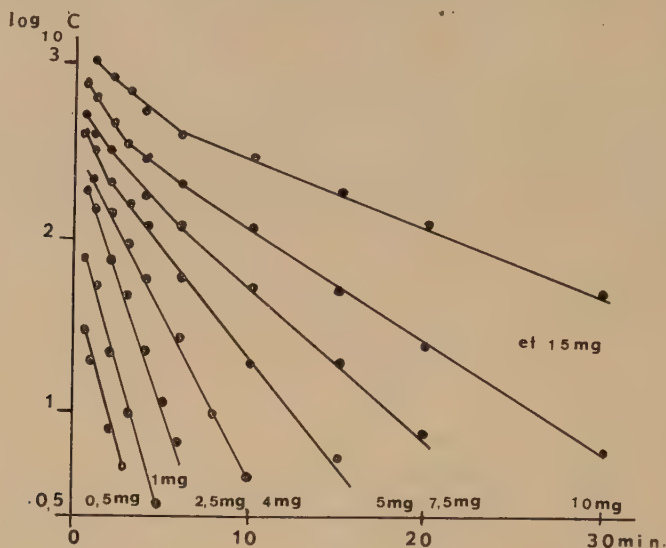
permet d'exprimer complètement les résultats expérimentaux.

La constante K , indépendante de la concentration actuelle comme de la quantité disparue, caractérise la vitesse du processus. On a

$$K = \frac{\log C_{t_1} - \log C_{t_2}}{t_2 - t_1} \quad (2)$$

GRAPHIQUE 1

Epuration sanguine de la B. S. P. consécutivement à l'injection de doses croissantes (de 0,5 à 15 mg par fraction de 100 g de poids corporel) chez le rat normal.



Courbes expérimentales. — Les logarithmes décimaux des concentrations sanguines (en microgrammes par ml) sont portés en fonction du temps (en minutes) écoulé depuis l'injection.

En substituant les logarithmes népériens aux logarithmes vulgaires dans l'équation (2), la constante devient égale à 2,3 K. On en peut immédiatement déduire le pourcentage de la quantité totale présente extraite du sang dans l'unité de temps, ou clearance fractionnelle.

C_{t_1} , C_{t_2} , t_1 et t_2 sont connus expérimentalement, on détermine par extrapolation la concentration initiale C_0 .

Le caractère exponentiel de l'épuration sanguine implique que la quantité de colorant disparue du plasma au cours de la première minute qui suit l'injection est maximale, comparativement à toute autre quantité extraite en une minute calculée sur la courbe.

Cette vitesse initiale d'extraction (P), théorique, (car elle suppose une répartition homogène immédiate de la B.S.P.), est égale au produit de la quantité injectée (Q) par la clearance fractionnelle. Soit

$$P = Q \cdot 2,3 K \quad (3)$$

Cette relation, qui fait intervenir (Q) (et, par conséquence, C_0 , puisque la dose est donnée proportionnellement au poids, et que chez l'animal normal, on peut admettre que le volume de diffusion par rapport au poids est constant), ainsi que le taux auquel s'effectue la disparition du colorant, définit la courbe considérée.

Mais si la dose est égale ou supérieure à 5 mg, on peut distinguer deux phases dans l'épuration sanguine.

Au cours de la première, caractérisée par la décroissance rapide de la concentration, la courbe présente des ralentissements successifs d'autant plus marqués que la dose est plus forte.

La seconde est la plus longue et correspond au segment terminal de la courbe. Pendant cette période, les logarithmes des concentrations décroissent linéairement avec le temps, et l'on peut calculer, comme pour les doses faibles, une constante K caractérisant la vitesse d'épuration.

Mais si d'une manière générale, K diminue quand s'élève la dose, dans le cas particulier des segments terminaux des courbes complexes, le ralentissement de la constante en fonction de la dose (D) obéit à une relation simple. On a

$$K \cdot D = Cte \quad (4)$$

comme le montrent les chiffres ci-après :

DOSE (en mg)	K	K . D
2,5	0,256	0,640
5	0,120	0,600
7,5	0,086	0,645
10	0,065	0,650

Une telle particularité différencie ces segments des exponentielles uniques décrivant l'épuration sanguine des doses faibles. Elle se rencontre également chez l'homme comme l'a montré FAUVERT (1960).

Cette manifestation d'un facteur qui limite K en fonction de la quantité injectée n'est pas directement liée aux valeurs que prend, au même instant, la concentration sanguine. Elle apparaît en effet lorsque cette dernière est comprise entre 150 et 300 microgrammes (par ml de sang). C'est-à-dire du même ordre de grandeur que celles qui succèdent à l'injection de doses inférieures à 5 mg.

C'est donc à la quantité de B.S.P. disparue au cours de la première phase de l'épuration sanguine des doses élevées qu'il faut attribuer un rôle déterminant.

Graphiquement, cette quantité est équivalente, pour la dose de 5 mg, à 76,5 % de la quantité injectée. Elle est de 73,5 % pour 7,5 mg et de 76 % pour 10 mg. Soit, en moyenne, d'environ 75 %.

Une telle valeur n'est pas sans évoquer les résultats obtenus par BRAUER et PESSOTTI (1949). Ces auteurs ont constaté, « in vitro », que le tissu hépatique fixe 75 % de la B.S.P. présente, indépendamment de la concentration initiale du milieu d'incubation (page 12).

D'autre part, le contraste entre la première phase de l'épuration, massive et rapide, et la lente évolution du segment terminal suggère la comparaison avec les observations de WIRTS et CANTAROW (1942). Ils furent les premiers à signaler la précocité et l'importance de la fixation tissulaire de la B.S.P. et insistèrent sur la rapidité de l'épuration sanguine d'une dose unique, comparativement à la durée de l'élimination du colorant dans la bile. Durée qu'explique la limitation du pouvoir excréteur des cellules du parenchyme hépatique.

Ces notions ont conduit à formuler une hypothèse qui tente de concilier les divers aspects présentés par les courbes expérimentales déterminées par l'épuration sanguine de doses croissantes de B.S.P.

Dès l'injection de la B.S.P., un phénomène prépondérant détermine l'épuration massive du colorant : c'est la fixation par le parenchyme hépatique, et accessoirement, par d'autres tissus. Simultanément, mais quantitativement de bien moindre importance, débute l'élimination dans la bile.

Lorsque la quantité intra-hépatique atteint, ou dépasse, les possibilités d'excrétion des cellules parenchymateuses, (doses égales ou supérieures à 5 mg), la situation se rapproche des conditions réalisées « in vitro » par BRAUER et PESSOTTI, et l'extraction du colorant tend vers une limite de l'ordre de 75 % de la quantité injectée.

Si l'épuration sanguine continue, c'est évidemment à cause de l'élimination biliaire qui, diminuant sans cesse le stock hépatique, modifie le rapport d'équilibre.

On peut alors admettre que ce processus, quantitativement limité, retentit d'autant moins sur la concentration intra-hépatique que celle-ci est plus élevée, et qu'en conséquence, l'épuration sanguine compensatrice soit d'autant plus ralentie ($K \cdot D = Cte$).

Inversement, si l'on n'observe pas de modification dans la vitesse d'épuration des doses inférieures à 5 mg, c'est que les quantités présentes dans le foie consécutivement à leur injection sont juste suffisantes ou trop faibles pour que l'excrétion biliaire atteigne son efficacité maximale.

Décomposition théorique de la courbe expérimentale complexe :

Le segment terminal des courbes complexes rend compte du retentissement sur la concentration sanguine de la décroissance de la concentration intra-hépatique que détermine l'élimination biliaire. On l'appelle, pour simplifier, composante d'élimination, ou composante lente.

Il est défini par sa pente K_E , et par la concentration initiale C_{EO} que détermine son extrapolation au temps 0.

Si Q_{EO} est la quantité de B.S.P. présente dans le sang pour une concentration C_{EO} la vitesse d'extraction initiale P_E est, en mg :

$$P_E = Q_{EO} \cdot 2,3 K_E$$

Le calcul de Q_{EO} peut être effectué sans passer par la masse sanguine. Si C_0 est la concentration initiale de la courbe expérimentale, et Q , la quantité injectée, on voit que l'on a, en effet

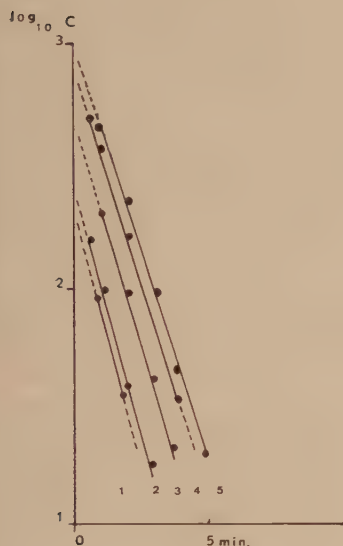
$$\frac{C_{EO}}{C_0} = \frac{Q_{EO}}{Q}$$

En soustrayant la composante d'élimination de la partie initiale de la courbe expérimentale complexe, on obtient une courbe qui repré-

sente l'épuration sanguine déterminée par la fixation tissulaire de la B.S.P., ou composante d'accumulation, ou composante rapide.

GRAPHIQUE 2

Décomposition théorique de la courbe expérimentale d'épuration sanguine de doses croissantes de B. S. P. administrées au rat normal : les composantes rapides.



Les courbes correspondent respectivement aux doses de 5 mg (1), 7,5 mg (2), 10 mg (3) et 15 mg (4 et 5) par fraction de 100 g de poids corporel.

La courbe (4) résulte de l'analyse de la composante complexe obtenue en soustrayant le segment terminal ($K = 0,028$) extrapolé de la courbe expérimentale.

La courbe (5) est déterminée en soustrayant le segment intermédiaire ($K = 0,045$) extrapolé du début de la courbe expérimentale.

Les logarithmes décimaux des concentrations calculées (en microgrammes par ml de sang) sont portés en fonction du temps (en minutes).

Le graphique 2 représente ces composantes pour les différentes doses.

Deux remarques essentielles s'imposent.

- elles décroissent exponentiellement ;
- elles sont parallèles.

Ce qui entraîne que la fixation de la B.S.P. par le foie est indépendante de la dose. La constante K_A prend pour chacune d'elles des valeurs comparables, de l'ordre de 0,300.

Si C_{AO} est la concentration au temps 0 déterminée par extrapolation, on a comme précédemment,

$$P_A = Q_{AO} \cdot 2,3 K_A$$

Il résulte de ce qui précède que P_A croît directement avec la dose, comme on peut le voir sur le tableau n° 1.

Taux d'extraction constant, quantités prélevées proportionnelles aux quantités présentes, c'est précisément les caractères qu'on pouvait attendre de la fixation tissulaire de la B.S.P.

TABLEAU 1
 RECAPITULATION DES DIVERS PARAMETRES
 QUI DEFINISSENT L'EPURATION SANGUINE
 DE DOSES VARIABLES DE B.S.P.

Doses, en mg, par fraction de 100 g de poids corporel	0,5	1	2,5	5	7,5	10	15
Nombre de rats	5						
Poids moyen des rats, en grammes	5 140 204 150	10	10	13	5	5	6
C ₀	60 70 56	129	280	600 400 67 % 200 33 %	630 400 63 % 230 37 %	970 570 58 % 400 42 %	1600 450 29 % 1150 (°) 71 % (+)
C _{EO}							
C _{AO}							
K _A : composante rapide ..	0,510 0,500 0,470	0,380	0,260	0,120	0,087	0,067	0,028
K _E : composante lente ...							
P _A : en mg, calculé pour 100 g de poids corporel		0,860	1,500	1,280	2,100	2,850	(—)
P _E : en mg, calculé pour 100 g de poids corporel				0,930	0,940	0,890	0,278

(°) (+) (—) Cette composante est constituée par deux segments. La soustraction du dernier, le plus lent (C_{ao} = 447 microgrammes, soit 28 % de C₀) (K_s = 0,112) détermine une courbe comparable à celles déduites pour les autres doses (C_{po} = 706 microgrammes soit 44 % de C₀ et K_F = 0,310).
 On a également :

$$P_a = 1,040 \text{ mg et } P_F = 4,660 \text{ mg}$$

— C₀, C_{AO}, C_{EO} : en microgrammes par ml de sang.

K_A, K_E : Calculés à partir des logarithmes décimaux des concentrations sanguines.

A l'inverse, les valeurs prises par P_E sont de même ordre pour 5, 7,5 et 10 mg : soit 0,930, 0,930, et 0,760 mg. (Pour que les valeurs de P_E et de P_A soient comparables entre elles, elles sont calculées pour 100 g de poids corporel).

La courbe expérimentale relative à la dose de 15 mg fait apparemment exception. (Graphique 3).

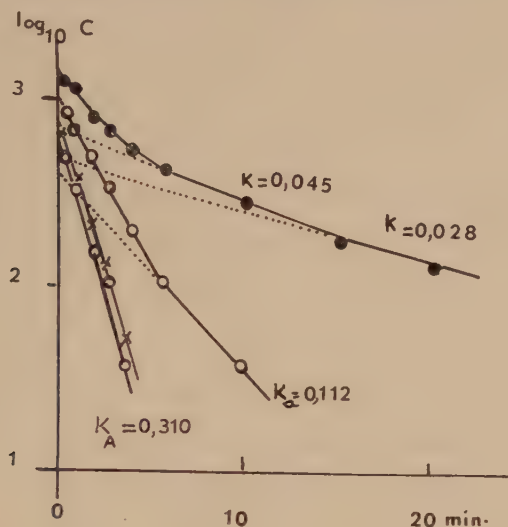
Son segment terminal accuse une pente K = 0,028, qui échappe à la relation K . D = Cte, puisque l'on a

$$0,028 \cdot 15 = 0,420.$$

Mais il faut observer qu'il se détache, 15 minutes après l'injection, au moment où la quantité disparue équivaut non pas à 75, mais à 88 % de la quantité injectée. Dans ces conditions, la vitesse d'extraction initiale suivant cette composante est très faible : 0,278 mg.

GRAPHIQUE 3

Décomposition théorique de la courbe expérimentale d'épuration sanguine d'une dose de B. S. P. de 15 mg (par fraction de 100 g de poids corporel) injectée au rat normal.



Les logarithmes décimaux des concentrations sanguines (en microgrammes par ml) sont portés en fonction du temps (en minutes) écoulé depuis l'injection.

Les composantes rapides ($K_A = 0,310$) sont obtenues :

X — en soustrayant de la courbe expérimentale le segment ($K = 0,045$) extrapolé, et O — en décomposant la courbe complexe déduite par soustraction du segment terminal ($K = 0,028$) de la courbe expérimentale.

● — : courbe expérimentale.

La courbe déduite en soustrayant ce segment lent de la courbe expérimentale est constituée par deux segments.

Mais si on la décompose à son tour, suivant le même procédé, on obtient une composante rapide en tous points comparable à celles obtenues pour les autres doses.

Si l'on soustrait la partie extrapolée du segment intermédiaire de la courbe expérimentale, on retrouve une composante rapide superposable à celle obtenue par les deux décompositions successives effectuées à partir du segment terminal ($K = 0,028$) comme il fallait s'y attendre. La difficulté ne réside pas dans l'analyse mathématique d'une telle courbe, mais dans la superposition des segments intermédiaire et terminal à un processus physiologique déterminant.

Le ralentissement observé avec 15 mg peut, à priori, relever de deux causes. On peut y voir l'effet d'une extraction continue extra-hépatique favorisée par la persistance de concentrations élevées comme l'ont signalé BRAUER, PESSOTTI et KREBS (1955), cités page 11. Ou l'épuration de fractions de colorant modifié au contact des tissus présents en quantités absolues élevées par suite de fortes concen-

trations réalisées et dont KREBS (1950), a montré qu'elles disparaissent moins vite du sang que la B.S.P. normale. Ou peut-être encore considérer que les deux phénomènes concourent à l'effet observé.

La vérification expérimentale des différentes propositions suggérées au cours de ce chapitre fait l'objet des recherches qui vont être exposées.

II. — ETUDE QUANTITATIVE

DE L'ACCUMULATION TISSULAIRE DE LA B.S.P.

ET DE SA PARTICIPATION A L'EPURATION SANGUINE

DU COLORANT

Deux séries d'expériences ont été entreprises pour tenter d'établir un rapport quantitatif entre les différentes phases du phénomène d'accumulation tissulaire et l'épuration sanguine.

Dans une première partie, l'élimination biliaire est supprimée par ligature extemporanée du cholédoque.

Le rat étant anesthésié au Nembutal depuis 10 minutes, le cholédoque est lié le plus près possible du hile. Dix minutes après l'intervention, on injecte des doses variables de B.S.P. (2,5 - 5 - 7,5 - 10 mg). Les animaux sont tués par saignée, 60 minutes après l'injection.

L'influence de la durée de l'épreuve, celle de la durée préalable de la ligature ont été étudiées. L'élimination urinaire également a été mesurée : dans 11 cas sur 12, elle a été trouvée inférieure à 1 % de la quantité injectée.

D'autre part, chez l'animal normal, on a déterminé la courbe de concentration de la B.S.P. dans différents tissus, en sacrifiant des lots de rats à des temps variables après l'administration de 5 ou 15 mg (par fraction de 100 g de poids corporel).

Dans les deux cas, la courbe d'épuration sanguine est établie, jusqu'à la mort de l'animal.

Les mesures de concentration tissulaire ont été effectuées sur des fragments de foie, de rein, de muscles de la patte postérieure et de l'abdomen, de la paroi de l'intestin grêle. Les résultats sont exprimés en mg par 100 g de tissu frais ainsi qu'en pourcentage de la quantité injectée pour l'organe entier ou la totalité du tissu. La masse musculaire totale a été trouvée équivalente à $48 \% \pm 3$ du poids corporel au cours de 12 déterminations, le poids des muscles qui délimitent la cavité abdominale en constituant le tiers.

Dans ces conditions, et compte tenu des quantités restant dans le sang ou éliminées, on retrouve de 85 à 95 % de la quantité injectée. Occasionnellement, des dosages complémentaires au niveau du poumon, de la rate, de la paroi gastrique, ont confirmé ces résultats.

TABLEAU 2

QUANTITES DE B.S.P. ACCUMULEES DANS LES TISSUS 60 MINUTES APRES L'INJECTION DE DOSES VARIABLES,
LE CHOLEDOQUE ETANT LIE 10 MINUTES AVANT L'INJECTION

DOSES	RATS	en mg/100 g de tissu frais					en pourcentage de la quantité injectée				
		Muscles p.p (+) Abd (—)	I.G.	Rein	Foie	Sg (°)	Muscles p.p (+) Abd (—)	I.G.	Rein	Foie	Sg (°)
2,5 mg	1	0,74	1,08	14	12,9	4,8	8	—	5	21,5	19,2
	2	0,56	0,95	13,4	14,4	3,8	6,5	0,8	5,2	26,3	18,2
	Moyenne	0,65	1,02	13,7	13,6	4,3	7,25	0,8	5,1	23,9	18,5
5 mg	3	1,38	2,6	32,5	22,6	11,8	7,4	1	6	20	23
	4	1,92	2,46	29,8	19,4	10,8	10,6	0,8	5,8	20	20,8
	Moyenne	1,7	2,53	31,2	21	11,3	9	0,9	5,9	20	21,9
7,5 mg	5	2,3	2,6	48,5	32,6	14,6	8	0,6	5,8	16,4	18,3
	6	2,04	3,42	56,3	49	17,7	7,6	0,7	6	33,5	27,5
	7	2,15	3,06	36,3	23	14,6	8,7	0,9	4	19	21,5
	Moyenne	2,16	3,03	47	35	15,9	8,1	0,7	5,3	23	22,5
10 mg	8	3,6	6,6	71	62	17	10,2	1,4	6,6	26	15,2
	9	2,92	4,6	63	35	21	11	1,08	5,7	15	18,8
	Moyenne	3,3	5,6	67	50	19	10,6	1,24	6,1	20,5	17

(+) et (—) : Muscles de la patte postérieure et de l'abdomen.

(°) sang : Concentration en mg/100 ml.

I.G. : Intestin grêle.

I. — ETUDE DE LA RÉPARTITION ENTRE LE SANG ET LES TISSUS DE DOSES VARIABLES DE B.S.P. EN CAS D'OBLITÉRATION DU CHOLÉDOQUE.

1°) 60 minutes après l'injection de la B.S.P. (2,5 - 5 - 7,5 ou 10 mg par fraction de 100 g de poids corporel), le cholédoque étant ligaturé depuis 70 minutes.

A ce moment, la concentration sanguine demeure pratiquement constante depuis au moins 20 minutes.

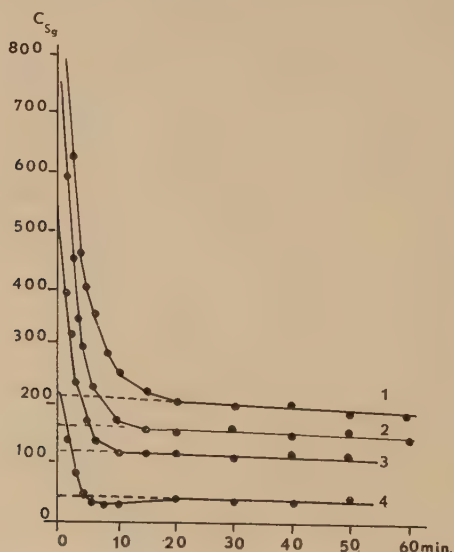
Les concentrations tissulaires relevées dans le tableau 2 croissent proportionnellement à la dose. Pour une même dose, le foie et le rein ont les concentrations les plus élevées, de 15 à 20 fois supérieures aux chiffres les plus forts rapportés pour les muscles ou la paroi de l'intestin grêle.

La concentration sanguine terminale est 2 à 5 fois plus faible que la concentration hépatique, et 6 à 7 fois plus élevée que celle des muscles de la patte postérieure.

Si l'on inscrit les concentrations sanguines en fonction du temps (graphique 4), les courbes évoluent parallèlement pour les doses de 5 mg ou davantage. Après une décroissance initiale rapide, on observe

GRAPHIQUE 4

Epuration sanguine de différentes doses de B. S. P. injectées 10 minutes après occlusion du cholédoque chez le rat.



Courbes expérimentales moyennes consécutives à l'injection de 10 mg (1) - 7,5 mg (2) - 5 mg (3) et 2,5 mg (4) par fraction de 100 g de poids corporel.

Les concentrations sanguines (en microgrammes par ml) sont portées en fonction du temps (en minutes) écoulé depuis l'injection.

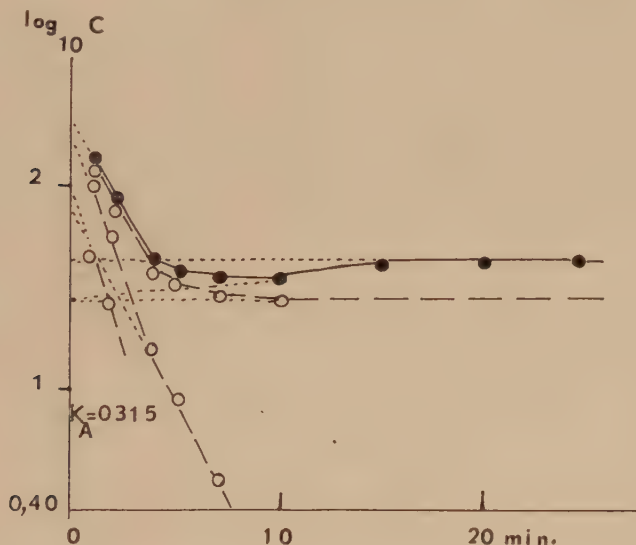
une période de stabilité pendant laquelle la concentration demeure pratiquement constante.

L'extrapolation au temps 0 de ce dernier segment détermine une concentration d'équilibre, C_{Eq} , qui est, avec la concentration initiale, C_0 , dans un rapport du même ordre de grandeur quelle que soit la dose, soit 22, 23,7 et 20 % pour 5, 7,5 et 10 mg.

La courbe déterminée par l'injection de 2,5 mg présente une particularité. Après une décroissance rapide, plus accentuée que pour les courbes précédentes, la concentration sanguine, en plateau depuis la 7^{me} minute, s'accroît de 10 à 20 minutes, puis demeure stable jusqu'à la fin de l'essai. La concentration d'équilibre équivaut à seulement 17,6 % de la concentration initiale.

GRAPHIQUE 5

Epuration sanguine d'une dose de 2,5 mg de B. S. P. injectée 10 minutes après ligature du cholédoque chez le rat. Correction de la courbe expérimentale pour l'accroissement de concentration observé entre 10 et 20 minutes après l'injection.



Les logarithmes décimaux des concentrations sanguines (en microgrammes par ml) sont portés en fonction du temps (en minutes) écoulé depuis l'injection.

Le segment ascendant de la courbe expérimentale est extrapolé au temps 0. De la concentration C'_{Eq} ainsi déterminée, on trace la nouvelle pente d'équilibre parallèle à la pente expérimentalement obtenue.

La différence des concentrations entre le segment extrapolé et la nouvelle pente d'équilibre représente à chaque instant la quantité excédentaire dont l'apparition détermine le ralentissement de la courbe expérimentale. On peut soustraire cette quantité de chacune des concentrations expérimentales mesurées, ce qui permet de reconstituer l'aspect de la courbe d'épuration sanguine indépendamment de ce phénomène surajouté. Il est alors possible de décomposer la courbe corrigée par la technique habituelle et d'obtenir la composante rapide d'accumulation tissulaire caractérisée ici par la constante $K = 0,315$ et $C_{A0} = 48\%$ de C_0 .

● Courbe expérimentale.

○ Courbe corrigée.

Il est possible de corriger cette courbe en fonction de cette modification transitoire. Le graphique 5 expose la méthode utilisée.

Il existe donc une quantité de B.S.P., fraction à peu près constante de la dose injectée, de l'ordre de 22 %, qui demeure dans le sang circulant pendant un temps relativement long par rapport à la période initiale de décroissance rapide.

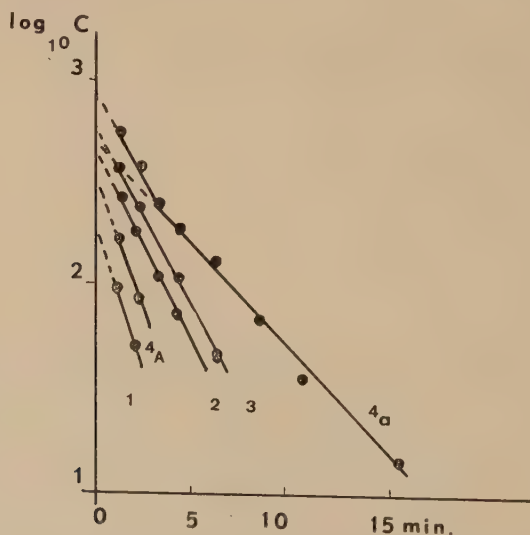
Pour avoir une représentation exacte des phénomènes qui déterminent la chute de la concentration sanguine, il faut soustraire cette quantité résiduelle des valeurs mesurées au cours de la première période.

Les composantes d'accumulation tissulaire sont représentées sur le graphique 6. Le tableau 3 réunit les divers paramètres qui les définissent.

La composante correspondant à la dose de 10 mg est constituée par deux segments. La soustraction du plus lent isole une composante

GRAPHIQUE 6

Epuration sanguine de différentes doses de B. S. P. injectées 10 minutes après ligature du cholédoque chez le rat. Courbes moyennes obtenues en soustrayant la concentration sanguine de la B. S. P à la période d'équilibre des valeurs mesurées au cours de la période de décroissance.



Les logarithmes décimaux des concentrations sanguines calculées (en microgrammes par ml) sont portés en fonction du temps (en minutes) écoulé depuis l'injection.

Les courbes correspondent respectivement aux doses de 2,5 mg (1), 5 mg (2), 7,5 mg (3) et 10 mg (4), 4_A se référant à la composante complexe, et 4_A à la composante rapide).

RECAPITULATION DES DIFFERENTS PARAMETRES
QUI DEFINISSENT LES COURBES MOYENNES D'EPURATION SANGUINE DETERMINEES PAR L'INJECTION,
10 MINUTES APRES LIGATURE DU CHOLEDOQUE, DE DOSES VARIABLES DE B.S.P.

DOSE	RAT N° :	Poids du rat	F/100 (°)	C ₀	C _{Bq}	C _{AO}	C _{A'0}	C _{AO}	K _A	K _{A'}	K _A
2,5 mg	1	205	4,220	240	44	196			0,320		
	2	185	4,600								
5 mg	3	205	4,300	570	126	444			0,190		
	4	195	5,000								
7,5 mg	5	265	3,820	760	180	580			0,185		
	6	300	4,850								
	7	180	4,680								
10 mg	8	300	4,050	1100	220	890	375	515	0,195	0,320	0,105
	9	195	4,350								
2,5 mg courbe corrigée :											
	1			240	28	212	116	96	0,280	0,315	0,200
	2										

(°) F/100 g : Poids relatif du foie, en grammes, calculé pour 100 g de poids corporel.

— Les concentrations sont exprimées en microgrammes/ml de sang et en pourcentage de la concentration initiale C₀.

— C_{Bq} : Concentration déterminée par l'extrapolation au temps 0 du segment stable de la courbe.

— C_{AO} : Concentration initiale de la courbe obtenue par soustraction de la quantité de B.S.P. demeurant dans le sang à la période

d'équilibre de la courbe expérimentale. K_A, constante qui caractérise sa vitesse d'épuration.

— C_{A'0}, K_{A'}, mêmes paramètres concernant la composante rapide

— C_{AO}, K_A, mêmes paramètres concernant la composante lente.

rapide, de pente $K = 0,320$ et dont l'extrapolation détermine une concentration $C_{A'O} = 375$ micro-grammes, soit 34 % de C_0 .

Pour la dose de 2,5 mg, le tableau comporte les chiffres obtenus :

— à partir de la courbe expérimentale (graphique 4) ;

— et de la courbe corrigée (graphique 5). Dans ce dernier cas, la soustraction de la concentration d'équilibre fait apparaître une composante constituée par deux segments. La soustraction du dernier, le plus lent, de la partie initiale détermine une composante rapide de pente $K = 0,315$ et dont l'extrapolation donne une concentration $C_{A'O}$ correspondant à 115 microgrammes, soit 48 % de C_0 .

2°) *Variations observées avec la durée de l'épreuve :*

Les animaux étant préparés dans les mêmes conditions que précédemment, on leur injecte 5 mg de B.S.P. par fraction de 100 g de poids corporel. L'un est sacrifié 5 minutes après l'injection, l'autre, 5 heures après l'injection.

Les concentrations sanguines obtenues chez le premier animal se superposent à celles données par la courbe moyenne pour cette dose.

La période d'équilibre, pour le second, se maintient jusqu'à la fin de l'essai, puisque la concentration sanguine ne décroît, de 60 minutes à 5 heures, que de 114 à 108 microgrammes.

Contrastant avec cette stabilité, un fait essentiel ressort à l'examen du tableau 4. La concentration hépatique est à la 5^{me} minute de 54,5 mg pour 100 g de tissu, ce qui correspond, pour l'organe entier, à l'accumulation de 49 % de la quantité injectée. Elle n'est plus, à la 60^{me} minute, que de 21 mg, soit 20 % de la quantité totale fixée dans le foie. Elle tombe, à la 5^{me} heure à 10,2 mg, 8 % seulement de la quantité injectée sont demeurés intra-hépatiques.

3°) *Influence de la durée préalable de la ligature du cholédoque.*

Le tableau 5 et le graphique 7 montrent que la concentration d'équilibre est plus élevée lorsque l'épreuve a lieu 5 heures après le début de l'obstruction biliaire. Le ralentissement initial de la courbe d'épuration sanguine indique que la pénétration hépatique est ralentie, comme en témoigne la concentration plus faible trouvée dans le foie à la fin de l'épreuve.

Cette réduction dans la vitesse des échanges entre le sang et le tissu hépatique permet peut-être d'expliquer pourquoi, au cours de l'essai précédent, le rapport entre la concentration hépatique et la concentration sanguine décroît sans cesse alors que cette dernière ne diminue pratiquement pas durant cette période.

80 % de la quantité de B.S.P. injectée 10 minutes après ligature du cholédoque sont retenus dans les tissus pendant l'heure qui suit, indépendamment de la dose, (dans les limites de 2,5 à 10 mg par fraction de 100 g de poids corporel).

Ces résultats sont très voisins de ceux qu'obtiennent, « in vitro », BRAUER et PESSOTTI (1949). Ces auteurs ont montré que les fragments

TABLEAU 4

*QUANTITES DE B.S.P. ACCUMULEE DANS LES TISSUS
EN FONCTION DU TEMPS ECOULE DEPUIS L'INJECTION D'UNE DOSE
DE 5 mg.*

			B.S.P. : I. — En mg/100 g de tissu frais					
Temps écoulé	RAT N° :	F/100 g (°)	Muscles		Intestin grêle	Rein	Foie	Sang en mg/ 100 ml
			Patte P. (+)	Abdo- men				
5 min.	10	4,500	1,51	1,15	2,57	26,2	54,5	18,4
1 h	3	4,650	1,70	2,53	1,3	30	21	11,3
	4							
5 h	5	3,750	0,98	2,7	2	43,5	10,2	11
	11							
			II. — En pourcentage de la quantité injectée :					
5 mn	10	4,500	9,9	3,8	1,43	4,45	49	29,5
1 h	3	4,650	9	7,4	0,9	5,9	20	21,9
	4							
5 h	5	3,750	6,2	8,7	1,13	7	8	20
	11							

(°) F/100 g : Poids relatif du foie, calculé pour 100 g de poids corporel.
 (+) Muscles Patte P. : Muscles de la patte postérieure.

TABLEAU 5

INFLUENCE DE LA DUREE DE LA LIGATURE DU CHOLEDOQUE
SUR LA REPARTITION DANS LES TISSUS D'UNE DOSE DE 5 mg de B.S.P.

			B.S.P. : I. — En mg/100 g de tissu frais					
Durée de la ligature	RAT N° :	F/100 g (°)	Muscles		Intestin grêle	Rein	Foie	Sang en mg/100 ml
			Patte P. (+)	Abdomen				
10 mn	3	4,650	1,7	2,53	1,3	30	21	11,3
	4							
	5							
5 h	12	4,450	0,8	1,5	1,22	35,5	16,6	13

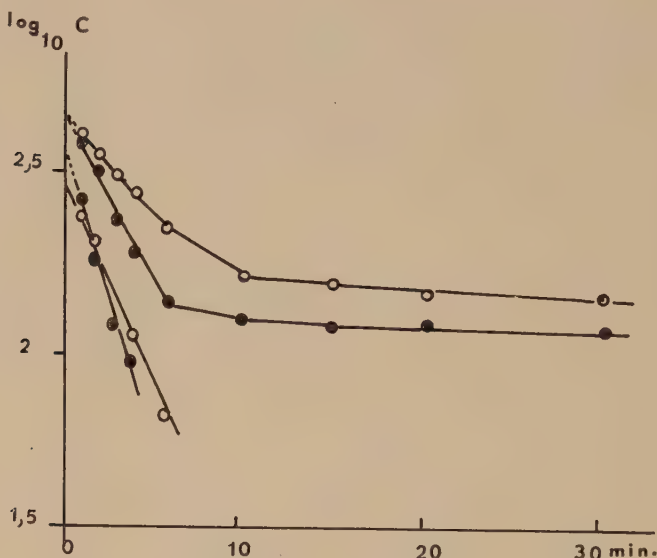
			II. — En pourcentage de la quantité injectée :					
10 mn	3	4,650	9	7,4	0,9	5,9	20	21,9
	4							
	5							
5 h	12	4,450	5	4,4	0,66	7,3	16,7	27,5

(°) F/100 g : Poids relatif du foie, calculé pour 100 g de poids corporel.

(+) Muscles Patte P : muscles de la patte postérieure.

GRAPHIQUE 7

Influence de la durée de la stase biliaire précédant l'injection sur la vitesse de l'épuration sanguine d'une dose de B.S.P. de 5 mg par fraction de 100 g de poids corporel, chez le rat.



Courbes expérimentales et leur composante rapide après une stase biliaire de 10 minutes (●) et de 5 heures (O).

Les logarithmes décimaux des concentrations sanguines (en microgrammes par ml) sont portés en fonction du temps (en minutes) écoulé depuis l'injection.

de foie fixent la B.S.P. au même taux, 74,2 % en moyenne de la quantité présente, quelle que soit la concentration initiale du milieu d'incubation.

La quantité intra-hépatique est élevée d'emblée : 5 minutes après l'injection, elle atteint 49 % de la quantité administrée, soit 62 % de la quantité accumulée dans les tissus. Ces chiffres concordent avec ceux que rapportent BRAUER, KREBS et PESSOTTI (1951) : à la fin d'une perfusion de B.S.P., ils mesurent dans le foie une quantité de colorant comprise entre 48 et 75 % de la quantité fixée dans l'organisme entier chez 4 chiens.

La décroissance de cette quantité, sans modification corrélative de la concentration sanguine peut dépendre de deux causes.

Si l'on oblitère transitoirement un cathéter introduit dans le cholédoque d'un rat, puis qu'on rétablisse le libre écoulement de la bile, dans les deux minutes qui suivent, on recueille, et ceci quelle que soit la dose, (2,5 ou 5 mg) 0,135 mg de B.S.P. par gramme de foie (quantité moyenne pour 4 animaux, avec des extrêmes à 0,178 et 0,088 mg). La durée de l'arrêt du débit (30 minutes ou 3 heures) n'intervient pas.

C'est dire qu'en dépit de l'oblitération du cholédoque, une fraction de la B.S.P. accumulée dans le parenchyme hépatique a quand même été excrétée dans les canalicules biliaires, en amont de la ligature.

Dans les cas étudiés ici, les quantités ainsi soustraites peuvent donc être de l'ordre de 12,6 % de la quantité injectée pour les rats tués à la 60^{me} minute, et de 10,3 % pour celui qui a été sacrifié à la 5^{me} heure.

Ces faits ne rendent compte que d'une moitié environ de la perte subie par le tissu hépatique.

La possibilité d'une accumulation du colorant dans le lymphé a été démontrée par HUNTON, BOLLMAN et HOFFMAN (1960). Ils ont vu qu'au cours de la première heure qui suit l'obstruction biliaire expérimentale chez le rat, la concentration lymphatique de la B.S.P., normalement nulle, est équivalente ou un peu supérieure à celle du plasma, pour devenir 4 à 5 fois supérieure après 6 heures. Ceci permettrait d'expliquer la baisse continue, tardivement observée de la concentration hépatique.

Par contre, en raison même de son caractère tardif, ce phénomène n'intervient vraisemblablement pas dans l'accroissement précoce de la concentration sanguine observé 10 à 20 minutes après l'injection de la dose de 2,5 mg. Cette manifestation se produit lorsque la concentration sanguine, après une décroissance rapide, devient relativement faible (12 % environ de sa valeur initiale). Dans ces conditions, il est probable que le colorant fixé dans le foie (comme l'a vu HANZON, en cas d'obstruction biliaire expérimentale également, avec l'uranine, 1951), ou dans les tissus extra-hépatiques comme le suggère l'étude cinétique de l'accumulation tissulaire (page 53) retourne à la circulation sanguine.

II. — ETUDE CINÉTIQUE DE LA CONCENTRATION DE LA B.S.P. DANS DIVERS TISSUS APRÈS L'INJECTION DE 5 OU DE 15 mg.

On a établi, chez le rat normal, la courbe de concentration de la B.S.P. dans le foie, le rein, les muscles de la patte postérieure et de l'abdomen, en sacrifiant des animaux à des temps variables après l'injection de 5 ou de 15 mg de colorant (par fraction de 100 g de poids corporel).

La moyenne des concentrations sanguines obtenues par des prélèvements effectués aux temps habituels et jusqu'à la mort de l'animal, ont permis de construire la courbe moyenne d'épuration sanguine dont l'analyse a fourni les éléments utilisés dans les calculs.

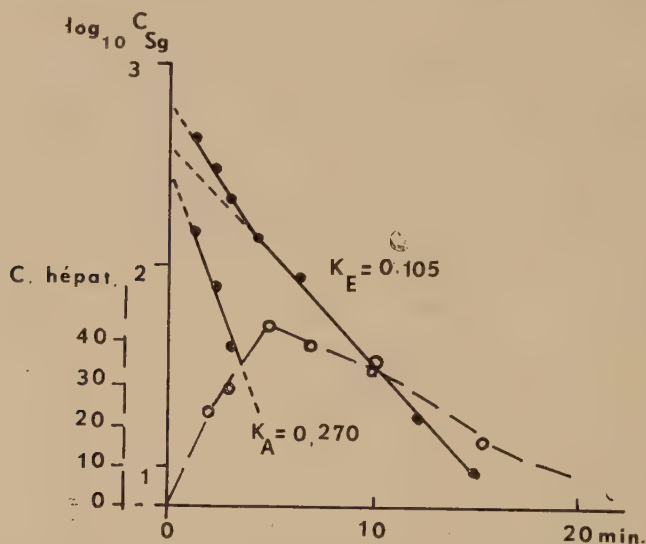
1°) Dose de 5 mg.

La courbe moyenne d'épuration sanguine est caractérisée par une concentration initiale, $C_0 = 610$ microgrammes (par ml de sang total). L'extrapolation de la composante lente ($K_E = 0,105$), détermine une concentration $C_{EO} = 340$ microgrammes, qui est avec C_0 , dans un rapport de 56 %.

La composante rapide déduite en soustrayant la composante lente de la courbe expérimentale, est définie par $C_{AO} = 270$ microgrammes, soit 44 % de C_0 , et par la constante $K_A = 0,270$ (graphique n° 8).

GRAPHIQUE 8

Etude cinétique de la répartition dans l'organisme du rat normal d'une dose de B.S.P. de 5 mg par fraction de 100 g de poids corporel.



● — Courbe moyenne d'épuration sanguine et sa composante rapide (les logarithmes décimaux des concentrations, en microgrammes par ml, sont portés en fonction du temps, en minutes, écoulé depuis l'injection).

○ — Courbe moyenne de la concentration hépatique (en mg pour 100 g de tissu frais) en fonction du temps (en minutes) écoulé depuis l'injection.

On peut suivre sur le tableau n° 6 l'évolution des différentes concentrations tissulaires comparativement à celle du sang, 2, 3, 5, 7, 10, 12, 15 et 30 minutes après l'injection.

Le phénomène prédominant, au cours des 5 premières minutes, c'est l'accumulation croissante dans le foie. Elle intéresse à 5 minutes, 46,3 % de la quantité injectée et détermine une concentration hépatique de 47,2 mg (pour 100 g de tissu frais), soit 3,85 fois supérieure à celle mesurée dans le sang au même instant. Ce rapport se maintient à 7 minutes. Il croît ensuite rapidement et atteint une valeur de 16 à la 15^{me} minute.

La fixation rénale aboutit également, dès la 2^{me} minute, à des concentrations élevées. Mais elle ne concerne, au total, que moins de 4 % de la quantité injectée.

L'évolution de la concentration musculaire requiert une mise au point. Equivalente au niveau des muscles de la patte postérieure et

ETUDE CINETIQUE DE LA REPARTITION TISSULAIRE D'UNE DOSE DE 5 mg DE B.S.P.
B.S.P. : en mg/100 g de tissu frais *en % de la quantité injectée*

Temps en min. (°)	Rat n° :	Muscles		Rein	Foie	Sang (.)	Muscles		Rein	Foie	Sang
		Patte (+)	Abd. (-)				Patte	Abd.			
2	20	1,79	1,67	21	24,2	25	12	5,6	3,1	23,2	43
—	21	1,97	1,53	22,3	28,5	25	13,2	5,1	3,7	25,5	43
	Moyenne =	1,88	1,60	21,65	26,35	25	12,6	5,35	3,4	24,35	43
3	22	1,58	1,55	24,2	30	17	10,5	5,1	4,1	25,5	29,4
—	23	1,58	1,49	23,2	31,2	17	10,5	5	3,7	27	29,4
	Moyenne =	1,58	1,52	23,7	30,6	17	10,5	5,05	3,9	26,25	29,4
5	24	1,30	1,26	26,4	44,5	15	8,4	4,1	4	42	25
—	25	0,93	0,97	18	42	8,5	5,3	2,75	3,4	44	14
—	26	1,17	1,15	27,5	56	13,5	6,5	3	4,1	50	23,5
	Moyenne =	1,13	1,03	23,3	47,2	12,3	6,7	3,28	3,83	46,3	20,8
7	27	1,28	1,53	39	35,5	8,5	8,2	4,9	3	29,3	14,7
—	28	1,66	1,62	23,8	44,2	13	10	5,2	3,7	34,5	22,5
	Moyenne =	1,42	1,57	31,4	39,83	10,7	9,1	5,05	3,35	31,9	18,6
10	29	1,20	1,63	21	35,5	4,8	7,6	5,2	3,3	31	8,4
—	30	1,47	1,55	20,2	37,7	3,4	9,4	4,9	3,3	30	5,9
	Moyenne =	1,33	1,59	20,6	36,6	4,1	8,5	6,5	3,3	30,5	7,15
12	31				24					25,8	4,3
—	32				24					25,8	4,3
	Moyenne =				24					25,8	4,3
15,5	33	0,6	0,6	12,8	14,4	0,9	5,2	5,2	2,5	16,5	1,6
—	34	0,45	1,44	7	10,6	—	2,4	3,9	0,11	7,15	0,5

(°) Temps, en minutes après l'injection.
 (+) Muscles de la patte postérieure.

(.) Concentration, en mg/100 ml.
 (—) Muscles de l'abdomen.

de l'abdomen, elle passe, entre 2 et 5 minutes, de 1,88 à 1,17 mg (chez des rats ayant, par ailleurs, un même poids de foie par fraction de 100 g de poids corporel). Mais on peut objecter qu'en dépit de la saignée mortelle, les vaisseaux musculaires ne sont pas entièrement vidés d'un sang dont la concentration en colorant est 13 fois supérieure au chiffre trouvé pour la concentration musculaire au même moment. En conséquence, ces variations risquent de traduire surtout la décroissance de la concentration sanguine.

De fait, le rapport entre la concentration musculaire et la concentration sanguine correspondante demeure constant pour cette période, comme on peut le voir sur le tableau 7.

Ce n'est qu'après la 5^{me} minute, que la concentration sanguine continuant à décroître, la concentration musculaire, comparativement, baisse de moins en moins. C'est donc à ce moment qu'on peut prouver qu'il existe une fixation efficace de la B.S.P. par les muscles, et cela, jusqu'à la 10^{me} minute environ. Ultérieurement en effet, toutes les concentrations tissulaires diminuent régulièrement, alors que la concentration sanguine tend vers 0.

TABLEAU 7		
Temps en minutes	C.M.P.	C.M.A.
	C.S.	C.S.
2	0,075	0,065
3	0,095	0,090
5	0,092	0,092
7	0,135	0,153
10	0,340	0,397

C.M.P. : Concentration des muscles de la patte postérieure.
C.M.A. : Concentration dans les muscles abdominaux.
C.S. : Concentration sanguine.

Si l'on se reporte à la courbe moyenne d'épuration sanguine, le ralentissement qu'elle présente, après 5 minutes, implique qu'à ce moment, le processus qui accélérerait la vitesse d'épuration cesse d'être prépondérant. En conséquence, les 44 % de la quantité totale de B.S.P. qui sont extraits du sang suivant la composante rapide, à une vitesse proportionnelle à la constante $K_A = 0,270$, doivent être pratiquement fixés dans les tissus.

Précisément à ce moment, la concentration hépatique passe par un maximum et la quantité accumulée dans le foie est égale à 46,3 % de la quantité injectée.

L'analogie entre les deux processus d'épuration sanguine suivant la composante rapide et d'accumulation hépatique de la B.S.P. (mêmes quantités concernées, même vitesse d'évolution) permet de conclure que, dans ces conditions expérimentales, le premier traduit l'efficience du second.

2°) Dose de 15 mg.

Quatre rats ont été sacrifiés respectivement à 4,5, 10, 18 et 20 minutes après l'injection de 15 mg de B.S.P. par fraction de 100 g de poids corporel.

Les résultats consignés dans le tableau 8 montrent que la concentration hépatique passe par un maximum entre 4,5 et 10 minutes après l'injection.

TABLEAU 8

ETUDE CINETIQUE DE LA REPARTITION TISSULAIRE D'UNE DOSE DE 15 mg DE B.S.P.

B.S.P. : en mg/100 de tissu frais							en % de la quantité injectée				
T. en min. (°)	Rat N°	Muscles		Rein	Foie	Sang (.)	Muscles		Rein	Foie	Sang
		Patte (+)	Abd. (—)				Patte	Abd.			
4,5	35	4,9	5,3	41,5	102	63,5	9	4,9	2,6	30,5	34
10	36	3,9	4,4	39	134	40	6,8	3,8	2,5	41,5	22,3
18	37	2,6	3,5	50	150	21,8	4,9	3,25	3	41	12
20	38	3,4	2,8	36	88	12,4	6	2,5	2,3	30	6,7
RAT N° :		35		36		37		38			
Poids :		220 g		205 g		280 g		210 g			
F/100 g :		4,450 g		4,700 g		3,880 g		4,900 g			

(°) Temps, en minutes, après l'injection.
 (+) Muscles de la patte postérieure.
 (—) Muscles de l'abdomen.
 (.) Concentration sanguine, en mg/100 ml.
 F/100 g : Poids du foie calculé pour 100 g de poids corporel.

Le graphique 9 représente, en pointillé, la courbe d'épuration sanguine de 15 mg de B.S.P. ordinaire chez le rat n° 38. La courbe en traits pleins correspond à la même épreuve, mais avec la B.S.P. marquée par le soufre radioactif.

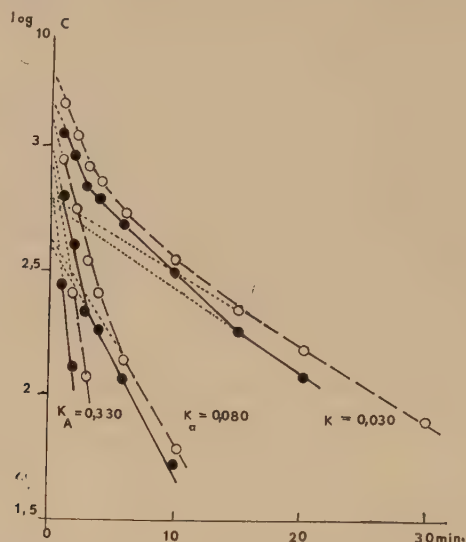
La décomposition de cette courbe donne, comme presque toujours pour une telle dose, une courbe complexe. Décomposée à son tour, elle comporte une composante rapide caractérisée, dans le cas de l'épreuve à la B.S.P. radiomarkée, par une concentration C_{AO} équivalent à 40 % de la concentration initiale, et par une pente $K_A = 0,350$.

Le petit nombre d'animaux sacrifiés au cours de cet essai ne permet pas le calcul direct de la constante K, caractérisant la vitesse de la fixation hépatique du colorant.

Les remarques suivantes autorisent, sous réserve, à en essayer le calcul en admettant que la quantité maximale fixée dans le foie est donnée par la concentration C_{AO} calculée ci-dessus. En effet, les

GRAPHIQUE 9

Etude comparée, chez un même rat, de l'épuration sanguine d'une dose de 15 mg (par fraction de 100 g de poids corporel) de B. S. P. ordinaire (● —) et de B. S. P. marquée par le soufre radioactif ^{35}S (○ —).



Courbes expérimentales et leurs composantes.

Les logarithmes décimaux des concentrations sanguines (en microgrammes par ml) sont portés en fonction du temps (en minutes) écoulé depuis l'injection.

Composantes employées : Segment terminal $K_{\alpha} = 0,080$.

Composantes rapides : $K_A = 0,330$.

4 prélèvements sanguins effectués avant la mort du rat sacrifié à 4,5 minutes se situent sur une courbe superposable à la courbe expérimentale obtenue chez le rat n° 38 et déterminent une concentration initiale de même ordre. Les poids respectifs des foies de ces deux animaux (calculés pour 100 g de poids corporel) sont voisins : 4,450 et 4,900 g, soit un poids moyen de 4,670 g.

Dans ces conditions, il est possible de penser que les résultats de l'analyse de la courbe d'épuration sanguine obtenus pour le rat n° 38 sont de même ordre que ceux qu'on aurait pu avoir, si le rat n° 35 n'avait pas été sacrifié à 4,5 minutes. En particulier, il est probable que la quantité maximale accumulée dans son foie est également de l'ordre de 40 % de la quantité injectée.

Il semble donc, que là encore, la composante rapide d'accumulation tissulaire rende compte de la partie purement hépatique du phénomène.

D'autre part, le dernier segment de la courbe expérimentale s'individualise à la 15^{me} minute. Ce qui implique que la fixation tissulaire prend fin vers ce moment. La concentration initiale de la composante complexe d'accumulation tissulaire indique que la quantité de B.S.P. extraite du sang au profit des tissus doit être, vers

15 minutes, de l'ordre de 60 % de la quantité totale. On en retrouve effectivement, à 10 minutes, et pour les seuls tissus examinés une quantité égale à 55 % de la dose injectée.

Si l'on remarque qu'en dépit de la chute de la concentration sanguine, les concentrations musculaires et rénale varient peu de 10 à 20 minutes, leur valeur à 10 minutes est sans doute significative, et indépendante de la présence de sang résiduel. Le chiffre de 55 % correspond donc bien au colorant effectivement fixé par les tissus.

Dans ces conditions, il est permis d'admettre que le segment le plus lent de la courbe complexe d'accumulation tissulaire reflète la fixation extra-hépatique de la B.S.P.

III. — MESURE DE LA CIRCULATION PHYSIOLOGIQUEMENT ACTIVE DU FOIE.

La composante rapide de la courbe expérimentale d'épuration sanguine de la B.S.P., telle qu'on vient de la décrire, traduit pratiquement la fixation du colorant par le foie.

Si la constante K_A caractérise la vitesse du phénomène, en convertissant les logarithmes décimaux en logarithmes népériens, K_A devient $k = 2,3 K_A$, et l'on en peut déduire le pourcentage de la quantité actuelle de B.S.P. extrait du sang dans l'unité de temps. Ou ce qui revient au même, la fraction de la masse sanguine complètement épurée du colorant qu'elle contenait. Ce qui implique que le débit sanguin transhépatique en une minute est au moins égal à ce volume.

Les techniques de même type habituellement utilisées pour ce genre de mesure font appel, comme on l'a exposé, à la captation par les cellules de Kupffer de substances colloïdales à doses précisément définies.

Il était intéressant de comparer l'épuration sanguine d'une dose convenable d'or colloïdal radioactif à la composante rapide d'accumulation intra-hépatique de la B.S.P. au cours d'épreuves successives chez le même animal.

Les détails de technique ont été exposés.

La concentration initiale de l'or colloïdal décroissant exponentiellement avec le temps, la vitesse d'épuration est exprimée par une constante :

$$K_{Au} = \frac{\log Act_1 - \log Act_2}{t_2 - t_1}$$

où Act_1 et Act_2 représentent la mesure de l'activité d'un ml de sang aux temps t_1 et t_2 . On peu en déduire :

$$k_{Au} = 2,3 K_{Au}$$

I. — Comparaison entre K_A et K_{Au} chez le rat normal.

Chez 10 rats, on a étudié successivement l'épuration d'une dose de 5 mg de B.S.P., puis de 7 microgrammes d'or colloïdal radioactif (quantité plus de 10 fois inférieure à la dose seuil) dont l'activité était suffisante pour que les mesures soient possibles pendant au moins 6 minutes. La courbe de décroissance de l'activité a été corrigée en fonction de la quantité d'or résiduelle échappant à la phagocytose, comme l'indiquent VETTER et ses collaborateurs (1954).

La mesure de l'efficacité de l'extraction de l'or colloïdal a été effectuée sur 5 animaux suivant la technique préconisée par BROSZI et ses collaborateurs (1955).

TABEAU 9

COMPARAISON ENTRE L'EPURATION SANGUINE DE LA B.S.P.
SUIVANT LA COMPOSANTE RAPIDE DE LA COURBE EXPERIMENTALE,
ET CELLE DE L'OR COLLOIDAL RADIOACTIF

Poids du Rat (en g)	F/100 g (en g)	K_A (B.S.P.)	K_{Au+}	D.S.S. (B.S.P.)	D.S.S. (Au)
238	4,730	0,355	0,320	1,28	1,16
215	4,900	0,305	0,275	1,08	0,98
250	4,468	0,300	0,275	1,18	1,07
225	4,320	0,270	0,240	1,08	0,95
192	4,250	0,330	0,310	1,35	1,27
205	4,200	0,255	0,230	1,05	0,95
195	4,050	0,345	0,310	1,46	1,33
182	4,325	0,450	0,400	1,78	1,60
185	4,050	0,390	0,350	1,64	1,50
180	4,160	0,390	0,350	1,60	1,47
Moyenne : 207	4,345	0,339	0,306	1,35	1,20

- F/100 g : poids du foie calculé pour 100 g de poids corporel.
- K_A et K_{Au+} sont calculés à partir des logarithmes décimaux des concentrations.
- D.S.S. : Débit sanguin sinusoïdal, en ml par minute, par gramme de foie.
- Masse sanguine moyenne, pour un rat de 100 g : 7,5 ml.
- Efficacité de l'extraction de l'or colloïdal : 90 %.
- Débit sanguin total moyen, en ml par minute et par gramme de foie :

$$\frac{1,20 \text{ ml}}{90} \cdot 100 = 1,32 \text{ ml.}$$

La valeur moyenne de la masse sanguine, pour un rat de 100 g, a été prise de 7,5 ml, chiffre admis par la plupart des auteurs et vérifié par des techniques diverses (bleu d'Evans, hématies marquées par le chrome radioactif).

Le tableau 9 groupe les résultats obtenus.

La similitude des constantes est évidente. Elle souligne le fait que K_A traduit effectivement la prise de la B.S.P. par le parenchyme hépatique.

II. — Comparaison entre K_A et K_{Au} lorsque l'apport sanguin portal est réduit par ligature d'une veine mésentérique.

Sous anesthésie légère à l'éther, on ligature une veine mésentérique chez 4 rats. Après 3 heures de récupération, chaque animal reçoit successivement une dose de B.S.P. de 7,5 mg (par fraction de 100 g) puis, 7 microgrammes d'or colloïdal radioactif.

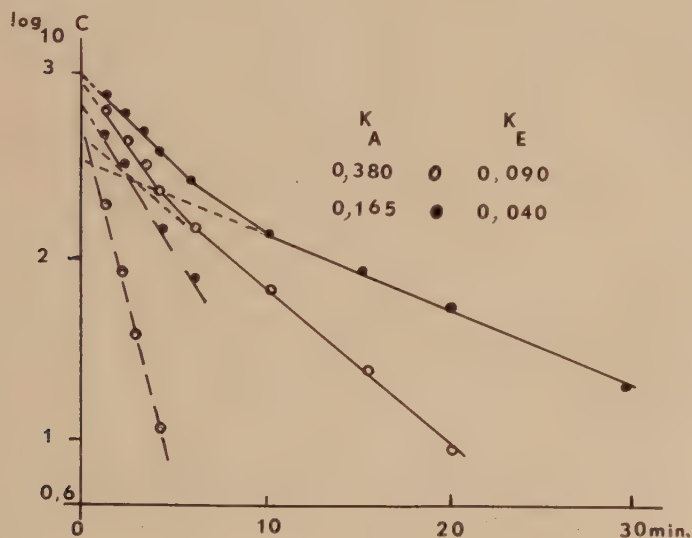
Deux rats ont subi toutes les manipulations nécessitées par l'intervention, à l'exception de la ligature de la veine mésentérique. Les deux épreuves de la B.S.P. et de l'or, effectuées dans les mêmes conditions que chez les rats traités, sont demeurées normales.

La mesure de l'efficacité de la captation de l'or colloïdal a été réalisée sur les 4 rats traités en fin d'expérience.

Le graphique 10 représente les courbes expérimentales d'épuration sanguine de la B.S.P. avant et après ligature de la veine mésentérique chez un même animal.

GRAPHIQUE 10

Mesure du débit sanguin physiologiquement actif du foie chez le rat. Epuration sanguine d'une dose de B. S. P de 7,5 mg (O) chez les témoins normaux et (●) après ligature d'une veine mésentérique.



—— Courbe expérimentale et — — — composante rapide.

Les logarithmes décimaux des concentrations sanguines (en microgrammes par ml) sont portés en fonction du temps (en minutes) écoulé depuis l'injection.

K_A : décrement logarithmique de la composante rapide.

K_E : décrement logarithmique de la composante lente.

Le tableau 10 groupe l'ensemble des résultats.

Les valeurs prises par K_A sont tout à fait comparables à celles de K_{Au} .

Il ressort des résultats apportés par ces deux essais que la constante K_A , comme la constante K_{Au} , reflète, indépendamment de la concentration, les variations du débit sanguin sinusoïdal intra-hépatique.

TABLEAU 10

COMPARAISON ENTRE L'EPURATION SANGUINE DE LA B.S.P.
SUIVANT LA COMPOSANTE RAPIDE DE LA COURBE EXPERIMENTALE
ET CELLE DE L'OR COLLOIDAL RADIOACTIF
APRES LIGATURE D'UNE VEINE MESENTERIQUE

RAT N°	Témoins (moyennes)	1	2	3	4
Poids du rat, en g	278	240	250	245	245
Poids du foie (calculé pour 100 g de poids corporel)	4,680	4,380	4	3,850	4,600
<i>B.S.P.</i>					
Dose (en mg pour 100 g)	7,5	7,5	7,5	7,5	5
C_{O_2} , en microgram- mes	900	1120	900	1000	610
C_{AO_2} , en micro- grammes et en % de C_{O_2}	400 44,5	880 78,5	585 65	500 50	452 74
K_A ($\log_{10}$)	0,380	0,130	0,165	0,240	0,192
P_A , en mg pour 100 g	2,950	1,780	1,860	1,800	1,750
K_E ($\log_{10}$)	0,090	0,016	0,040	0,045	0,010
<i>Au¹⁹⁹</i>					
K_{Au} ($\log_{10}$)	0,370	0,130	0,175	0,230	0,190
Coefficient d'effi- cacité	86 %	66 %	98 %	91 %	91 %
Débit sanguin sinu- soïdal en ml par minute et par g de foie :					
— (B.S.P.)	1,45	0,53	0,75	1,13	0,74
— (Au^{199})	1,42	0,53	0,79	1,07	0,74

Une autre conséquence doit être précisée. L'efficacité mesurée de la captation de l'or colloïdal s'élève à 90 % chez les rats normaux et 86 % pour les 2 témoins au second essai. Ce coefficient n'a pas été mesuré pour la B.S.P., mais les résultats observés obligent à lui attribuer une valeur de même ordre. De tels chiffres sont d'ailleurs parfaitement en accord avec ceux qu'ont trouvés BRAUER, HOLLOWAY et

LEONG (1959) en perfusant un foie isolé de rat. A un débit de 1,32 ml par minute et par gramme de foie (valeur moyenne calculée pour les 10 rats en expérience à partir de l'épuration sanguine de l'or colloïdal (tableau 9), correspond, pour ces auteurs, un coefficient d'efficacité de l'ordre de 85 % pour l'extraction de la B.S.P.

III. — Rapport entre K_A et le poids du foie.

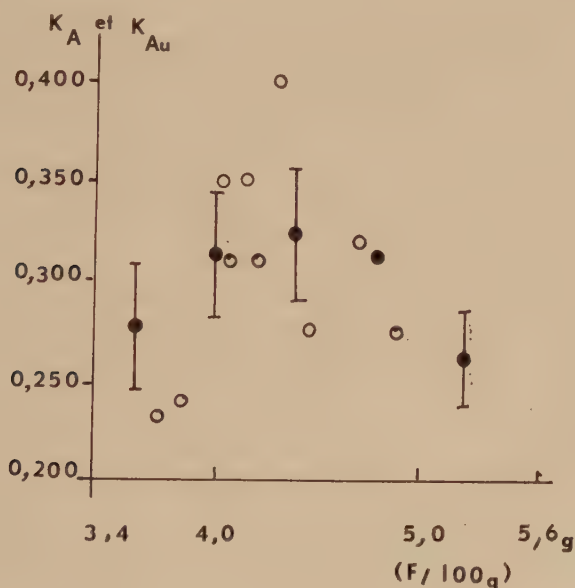
Le graphique 11 représente des valeurs de K_A , pour 50 rats normaux, en fonction du poids relatif de leur foie, ($F/100$ g, calculé par rapport à 100 g de poids corporel).

On y a joint les 10 valeurs trouvées pour K_{Au} relevées dans le tableau 9.

Ce paramètre est à peu près constant lorsque $F/100$ g est compris entre 4 et 5 g. Il décroît avec les valeurs extrêmes.

GRAPHIQUE 11

Mesure du débit sanguin transhépatique physiologiquement actif chez le rat. Evolution de K_A et K_{Au} en fonction de $F/100$ g.



K_A : décroissement logarithmique des composantes rapides des courbes d'épuration sanguine d'une dose de B. S. P. de 5 mg. Valeurs moyennes et leur écart-type (●).

K_{Au} : décroissement logarithmique de la courbe d'épuration sanguine d'une dose d'or colloïdal radioactif de 7 microgrammes. Résultats individuels : (O).

$F/100$ g : poids de foie calculé pour 100 g de poids corporel.

Si l'on admet que la masse sanguine varie peu chez le rat normal (7,47 ml $\pm$ 0,15 pour HALL, NASH et HALL) (1957), on peut calculer le débit sanguin transhépatique en ml par minute et par gramme de foie, à partir de 2,3 K_A en admettant que la masse sanguine moyenne est de 7,5 ml pour un rat de 100 g, suivant

$$\text{D.S.S. en ml/m/g} = \frac{7,5 \text{ ml} \cdot 2,3 \text{ K}_A \cdot 100}{\text{F}/100 \text{ g}}$$

Cette valeur varie peu lorsque F/100 g grandit, jusqu'à 4,800 g. Sa brusque décroissance pour les poids relatifs de foie plus élevés peut tenir à deux causes : ou bien une réduction réelle du débit en raison de la masse hépatique, ou bien une irrigation incomplète d'un parenchyme hypertrophié laissant inactive une partie des cellules. Cette ambiguïté diminue l'intérêt de la mesure dans ce cas particulier.

IV. — ETUDE QUANTITATIVE DE L'ELIMINATION BILIAIRE DE LA B.S.P. ET DE SON INTERFERENCE AVEC L'EPURATION SANGUINE DE CE COLORANT.

Les essais sont effectués sur 22 rats anesthésiés par une seule injection intra-veineuse de Nembutal. Un cathéter de polythène est introduit dans le cholédoque 10 minutes après l'injection anesthésiante.

Les doses de B.S.P., utilisées sont de 0,5, 1, 2,5, 5, et 10 mg (par fraction de 100 g de poids corporel).

La courbe de décroissance de la concentration sanguine est établie suivant la méthode habituelle.

La bile est collectée de 5 en 5 minutes pendant la durée de l'épuration sanguine. Toutes les 15 minutes, puis toutes les demi-heures ensuite, à mesure que baisse la concentration biliaire du colorant.

I. — ETUDE QUANTITATIVE DE L'ÉLIMINATION BILIAIRE DE LA B.S.P. :

1. — *Apparition du colorant dans la bile :*

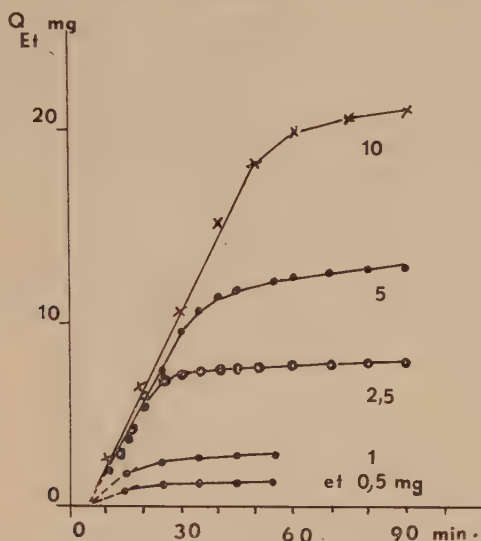
Elle se produit, dans tous les cas, au cours de la première minute qui suit l'injection.

2. — *Evolution de la quantité de B.S.P. éliminée, en fonction du temps et de la dose injectée.*

Si l'on porte, en fonction du temps (en minute), la sommation des quantités de B.S.P. (en mg) recueillie à chaque prélèvement, on obtient, suivant la dose injectée, deux types de courbe (graphique 12).

GRAPHIQUE 12

Elimination biliaire de la B.S.P. chez le rat normal. Sommation des quantités de B.S.P. recueillies à chaque prélèvement pour différentes doses.



Q_{Et} : quantité totale de B.S.P. (en mg) excrétée dans la bile à un temps donné t (en minutes).

Les doses de 10, 5, 2,5, 1 et 0,5 mg s'entendent par fraction de 100 g de poids corporel.

1°) De 0,5 à 2,5 mg.

L'ensemble des résultats est donné dans le tableau 11, où les quantités rapportées sont calculées, ainsi que le poids relatif du foie qui y est joint, pour 100 g de poids corporel.

TABLEAU 11

QUANTITES DE B.S.P. ELIMINEES DANS LA BILE A DES TEMPS DETERMINES

APRES L'INJECTION D'UNE DOSE DE 0,5 - 1 ou 2,5 mg/100 g DE RAT

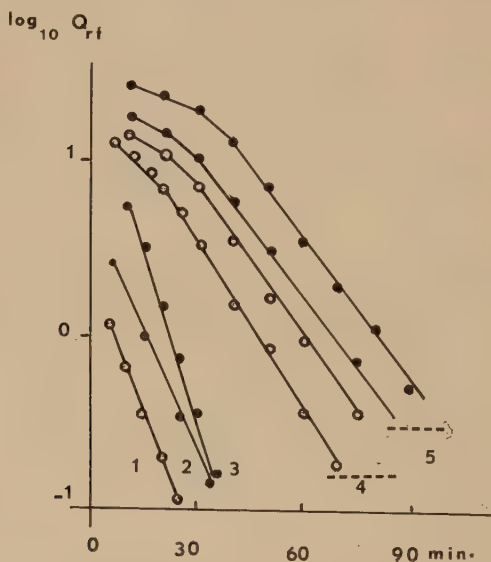
	1	5	2
Nombre d'animaux	300	353	335
Poids moyen (en g)			
Poids moyen du foie, en g, calculé pour 100 g de rat	5,100	3,150	3,750
Dose en mg/100 g de rat	0,5	1	2,5
	t		
QUANTITES de B.S.P., en mg, recueillies dans la bile, calculées pour 100 g de poids corporel, au temps t après l'injection :	5 m	0,075	—
	15 m	0,307	0,545
	25 m	0,435	0,730
	35 m	0,460	0,780
	45 m	0,470	0,805
	55 m	0,477	0,830
			1,350
			2,080
			2,260
			2,310
			2,330

Il en ressort que la quantité (Q_E) de B.S.P. éliminée à un temps donné (t) après l'injection est, dans ces conditions expérimentales, directement proportionnelle à la dose et ne dépend pas du poids relatif de l'organe.

Si l'on détermine pour chaque dose la quantité Q_L limite vers laquelle tend chacune de ces fonctions, on peut soustraire, à chaque période de récolte, la somme des quantités de B.S.P. éliminée au moment considéré. La quantité résiduelle obtenue — et qui correspond à la quantité intra-hépatique au même moment — décroît exponentiellement par rapport au temps. (Graphique 13).

GRAPHIQUE 13

Evolution de Q_{rt} en fonction du temps, pour différentes doses.



Les quantités résiduelles de B.S.P. (Q_{rt} , en mg) sont obtenues par différence entre la quantité limite vers laquelle tend la sommation des quantités éliminées dans la bile et la quantité Q_{Et} effectivement recueillie à un temps déterminé t .

On a inscrit, en fonction du temps (en minutes) écoulé depuis l'injection, les logarithmes décimaux de Q_{rt} pour différentes doses, soit 0,5 mg (1) - 1 mg (2) - 2,5 mg (3) - 5 mg (4) - et 10 mg (5).

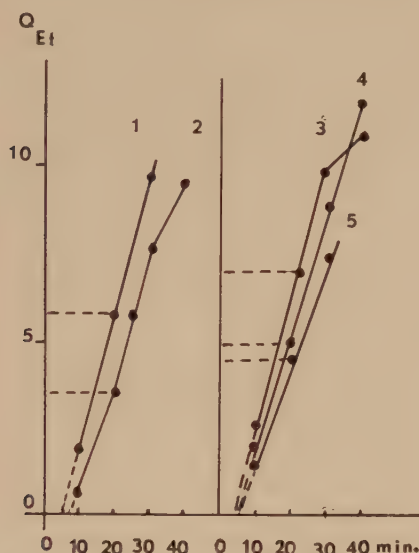
Il s'ensuit que l'accroissement de la quantité éliminée est également une fonction exponentielle du temps.

2°) De 2,5 à 10 mg :

Les courbes présentent deux phases distinctes (Graphique 12) : La première, contemporaine de l'épuration sanguine est une fonction linéaire du temps.

GRAPHIQUE 14

Pendant la période où Q_{Et} croît linéairement avec le temps, on a, à un temps donné t : $\frac{Q_{Et}}{F/100 \text{ g}} = \text{Cte}$, soit $1,45 \pm 0,07$ à la 20^{me} minute et $2,40 \pm 0,21$ à la 30^{me} minute après l'injection.



Q_{Et} (en mg) est la quantité totale de B.S.P. éliminée dans la bile à un temps t après l'injection.

$F/100 \text{ g}$ (en g) est le poids du foie calculé pour 100 g de poids corporel.

Les courbes 1, 2, 3, 4 et 5 correspondent à des valeurs de $F/100 \text{ g}$ respectivement égales à 3,950 g, 2,760 g, 4,730 g, 3,550 et 3,250 g.

Il est remarquable que, quelle que soit la dose (au-delà de 2,5 mg), pour des animaux de poids équivalents et dont le poids relatif de foie est de même ordre, ces droites sont confondues, et l'on a :

$$Q_E = a (t - t_L)$$

où Q_E est la quantité de B.S.P. recueillie au temps t considéré, et t_L , le temps de latence dû au cheminement de la bile dans les canalicules biliaires et le cathéter. La différence $t - t_L$ représente la durée nécessaire à l'élimination de la quantité Q_E .

Si toutes les autres conditions expérimentales restent les mêmes, et que seul varie le poids relatif du foie (calculé pour 100 g de poids corporel), le coefficient de la courbe varie dans le même sens : il croît avec la masse hépatique et diminue avec elle.

De sorte que si l'on désigne le poids relatif du foie par $F_{100 \text{ g}}$, on a, pour toutes les doses supérieures à 2,5 mg, à un temps donné t après l'injection :

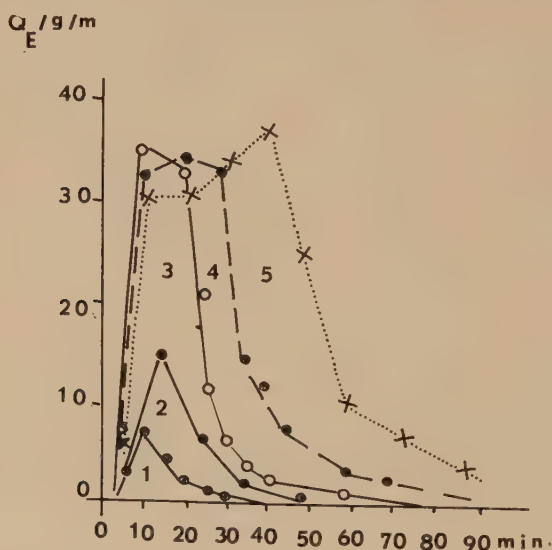
$$\frac{Q_{Et}}{F_{100 \text{ g}}} = \text{Cte}$$

Soit $1,45 \pm 0,07$ à la 20^{me} minute, et $2,40 \pm 0,21$ à la 30^{me} minute (graphique 14).

La quantité de B.S.P. éliminée par gramme de foie et par minute est constante, pendant au moins la durée de l'épuration sanguine, donc indépendante de la concentration hépatique. La cellule parenchymateuse a atteint la limite supérieure de son aptitude à excréter la B.S.P. dans la bile. Le graphique 15 en donne la mesure : de 35 à 40 microgrammes par gramme de foie et par minute.

GRAPHIQUE 15

Evolution de $Q_E/g/m$ en fonction du temps pour différentes doses de B. S. P. chez le rat normal.



Pour chaque période de récolte, $Q_E/g/m$ est la quantité de B.S.P. (en microgrammes) éliminée en moyenne, en une minute par gramme de foie.

Les courbes 1, 2, 3, 4, 5, correspondent respectivement aux doses de 0,5 - 1 - 2,5 - 5 et 10 mg de B. S. P. par fraction de 100 g de poids corporel.

La seconde partie des courbes, alors que la concentration sanguine tend vers 0, présente une évolution très différente. Elle décroît régulièrement avec le temps suivant une allure comparable à celle des courbes obtenues pour les doses inférieures à 2,5 mg.

Si l'on détermine vers quelle valeur limite tendent chacune de ces fonctions et qu'on soustrait successivement des chiffres trouvés la somme des quantités de B.S.P. éliminées à chaque période de récolte pour la dose considérée, la quantité résiduelle obtenue dans chaque cas — et qui correspond à la quantité intra-hépatique au même moment — décroît exponentiellement avec le temps, à partir de l'instant où l'accroissement de Q_E cesse d'être linéaire. (Graphique 13).

Ce résultat implique que l'accroissement des quantités éliminées au cours de cette seconde période possède le même caractère exponentiel, ce que faisait présager la représentation graphique.

On peut évaluer les quantités résiduelles intra-hépatiques au moment où débute cette seconde période, et les comparer aux quantités accumulées dans le foie consécutivement à l'injection de doses inférieures à 2,5 mg.

Calculées par gramme d'organe à partir du graphique 12, elles sont respectivement de 180 à 320 microgrammes pour les doses de 2,5 et 5 mg. Parallèlement, les quantités accumulées après l'injection de 0,5 et 1 mg, et considérées comme égales à la limite vers laquelle tend la somme des quantités éliminées, sont, pour chacune de ces deux doses, de 190 à 290 microgrammes.

Toutes ces quantités décroissent exponentiellement à des vitesses comparables (graphique 13), il en résulte que tout se passe comme si le foie contenait, en fin d'épuration sanguine une fraction équivalente à 20 % de la dose injectée lorsque celle-ci est supérieure à 2,5 mg.

Ce résultat s'accorde avec les chiffres relevés dans le tableau 6 : la quantité intra-hépatique est de 16,5 % de la quantité injectée, lorsque la concentration sanguine n'est plus que de 1,6 % de sa valeur initiale.

Il faut noter le rôle intermédiaire que joue la dose de 2,5 mg. Au cours des 15 premières minutes qui suivent son injection, elle s'apparente par la quantité éliminée, aux doses déterminant une concentration hépatique supérieure à la capacité maximale d'excrétion. Pourtant, par d'autres caractères (proportionnalité de Q_E avec la dose à un temps donné, caractère exponentiel de la quantité résiduelle dès la 10^{me} minute), elle se rattache au groupe des doses faibles.

3. — Evolution de la concentration biliaire de la B.S.P.

Le tableau 12 réunit les valeurs de la concentration biliaire de la B.S.P. (en mg par ml pour chaque période de prélèvement pendant une heure après l'injection de 5 à 10 mg pour 100 g de poids corporel).

TABLEAU 12

Concentration : en mg par ml Débit : en ml/10 m	DOSE	RAT N°	TEMPS, en minutes, après l'injection				
	10 mg	A	10	20	30	40	50
			12,6	11,8	11,4	11,4	8,2
			0,36	0,32	0,41	0,43	0,35
Concentration : en mg par ml	5 mg	B	12,4	13,4	10,6	4,5	
		C	12	9,9	11,6	10,2	5,8
		D	11,2	12,7	11	4,4	
		E	10	12,4	13,6	9	3,75
Débit : en ml/10 m		B	0,37	0,37	0,365	0,30	0,28
		C	0,30	0,34	0,33	0,33	0,30
		E	0,33	0,35	0,32	0,33	0,30
		D	0,35	0,36	0,43	0,41	0,35

Le maximum observé est de 13,6 mg.

Le calcul est effectué, pour la première période en tenant compte du temps de latence, t_L . Dans ces conditions, la concentration atteint des valeurs élevées dès le début de l'épreuve. Elle s'y maintient tant que la quantité éliminée dans l'unité de temps reste constante, pour décroître rapidement ensuite.

Si l'on compare aux valeurs des concentrations les mesures correspondantes du débit biliaire, il semble que l'excrétion de fortes concentrations de B.S.P. entraîne une augmentation non négligeable du débit. Le débit basal de la bile oscille entre 0,25 et 0,32 ml pour une période de 10 minutes. Il peut s'élever jusqu'à 0,41 ou 0,43 ml pendant la période d'excrétion maximale de la B.S.P., et diminue ensuite à mesure que baisse la concentration du colorant.

II. — INTERFÉRENCE DE L'ÉLIMINATION BILIAIRE DE LA B.S.P. AVEC L'ÉPURATION SANGUINE DU COLORANT :

Démonstration expérimentale :

1°) *Par occlusion transitoire du cholédoque.*

a) Chez le rat N° 12, porteur d'une fistule biliaire extemporanée, on injecte dans un premier temps une dose de 5 mg de B.S.P. Les prélèvements biliaires et sanguins sont effectués suivant la méthode habituelle.

Lorsqu'après 4 heures, la quantité de B.S.P. recueillie dans la bile équivaut à 90 % de la quantité injectée, le cathéter introduit dans le cholédoque est oblitéré, en même temps qu'on renouvelle l'injection d'une même dose de B.S.P. Cinquante minutes après la stabilisation de la concentration sanguine, on laisse à nouveau la bile s'écouler librement.

La courbe d'épuration sanguine de la première dose de colorant est caractérisée par une concentration initiale $C_0 = 695$ microgrammes (par ml de sang total). Le segment le plus lent est défini par la concentration obtenue par extrapolation au temps 0, $C_{EO} = 400$ microgrammes (soit 57,5 % de la valeur de C_0) ainsi que par la constante $K_E = 0,060$ qui exprime la vitesse de l'épuration sur cette partie de la courbe, et la composante rapide par $C_{AO} = 295$ microgrammes, et $K_A = 0,250$.

La seconde injection détermine une concentration initiale de 660 microgrammes, qui décroît pendant 10 minutes, atteint 100 microgrammes, s'accroît un peu et se stabilise à la 20^e minute à 110 microgrammes soit 17,8 % de la concentration initiale.

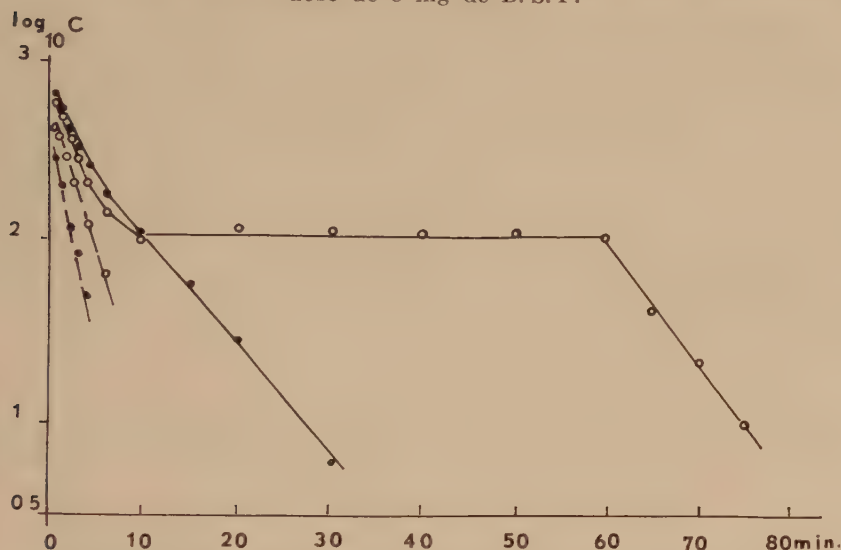
— L'étude détaillée de cette courbe sera faite plus loin, cet essai n'étant rapporté ici que pour démontrer l'analogie entre le segment lent de la courbe normale et l'effet déterminé sur la concentration d'équilibre par la libération de l'élimination biliaire.

On vérifie pendant 50 minutes la stabilité de la concentration sanguine, puis on ouvre le cathéter. La reprise de l'élimination biliaire provoque la décroissance de la concentration d'équilibre qui s'effectue suivant $K'_E = 0,062$, c'est-à-dire à une vitesse tout à fait comparable à

celle calculée sur le segment le plus lent de la courbe précédemment obtenue dans les conditions normales. (Graphique 16).

GRAPHIQUE 16

Décomposition expérimentale de la courbe d'épuration sanguine d'une dose de 5 mg de B. S. P.



Les logarithmes décimaux des concentrations sanguines (en microgrammes par ml) sont inscrits en fonction du temps (en minutes) écoulé depuis l'injection.

● — Courbe normale et sa composante rapide.

O — Courbe obtenue pendant l'occlusion temporaire du cholédoque et sa composante rapide.

A 60 minutes, on libère le flux biliaire.

Si l'on compare dans les deux cas, les quantités de B.S.P. récupérées dans la bile lors du premier prélèvement, on constate que celle qui a été recueillie après l'occlusion transitoire du cholédoque dépasse de 4,350 mg (soit 21,7 % de la quantité injectée) la quantité normalement mesurée. Il est donc manifeste qu'en dépit de l'arrêt de l'écoulement de la bile, la sécrétion du colorant a continué pendant un certain temps, vraisemblablement au début de l'épreuve, puisque ensuite la concentration sanguine demeure invariable.

Parallèlement, le volume biliaire recueilli dans ces dix minutes, est passé de 0,350 ml normalement à 0,715 ml, et la concentration biliaire de la B.S.P. a légèrement baissé : 9,8 mg à la 10^{me} et à la 20^{me} minute contre 10 et 12,4.

Cet excès de 0,365 ml qui correspond au volume de bile accumulée pendant l'occlusion du cholédoque, permet d'évaluer une limite supérieure du volume de l'arbre biliaire qui correspond dans ces conditions, pour un foie pesant 13,200 g, à 2,75 % de la masse hépatique. Des considérations de même ordre ont amené BRAUER et KREBS (1960) à lui attribuer, au cours d'essais comparables, une valeur de 1,5 %.

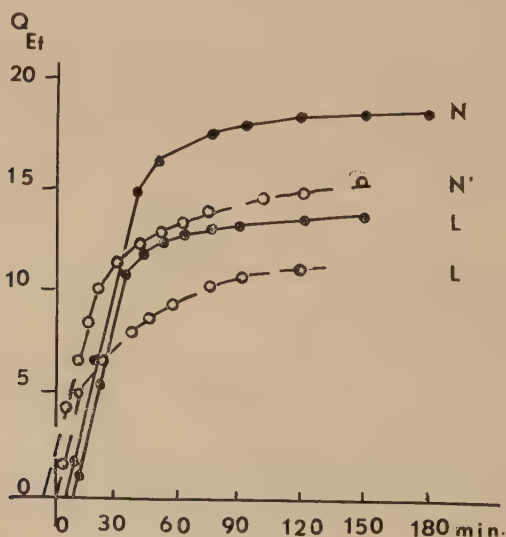
b) Chez le rat N° 14, des conditions expérimentales analogues, la durée d'occlusion du cholédoque étant de 75 minutes, donnent des résultats comparables. La vitesse de l'épuration sanguine que détermine le rétablissement de l'élimination biliaire est la même que celle décrite par le segment terminal de la courbe normale. On a $K'_E = 0,069$ contre $K_E = 0,069$.

La quantité de B.S.P. accumulée dans l'espace mort est de 2,2 mg (soit 10,5 % de la quantité injectée). Le volume de bile recueilli au cours de la première période de récolte de 10 minutes s'élève à 0,645 ml, il était de 0,370 ml normalement. L'excès de 0,275 ml correspond à 2 % du poids du foie, valeur comparable à celle calculée pour le rat N° 12.

En comparant les courbes du graphique 17, on peut voir que les quantités de B.S.P. éliminées après la période d'occlusion du cholédoque cessent de croître linéairement avec le temps vers la fin de l'épuration sanguine, mais que les valeurs qu'elles atteignent alors sont inférieures à celles obtenues dans les mêmes conditions au cours de l'épreuve normale.

GRAPHIQUE 17

Elimination biliaire comparée chez un même rat d'une dose de 5 mg de B. S. P. (N et N') dans les conditions normales et (L et L') après occlusion temporaire du cholédoque.



Evolution de la sommation des quantités éliminées (Q_{Et} en mg) à un moment donné t.

Q_{Et} : quantité totale de B. S. P. éliminée dans la bile à un temps donné t.

N : rat n° 12.

L : rat n° 14.

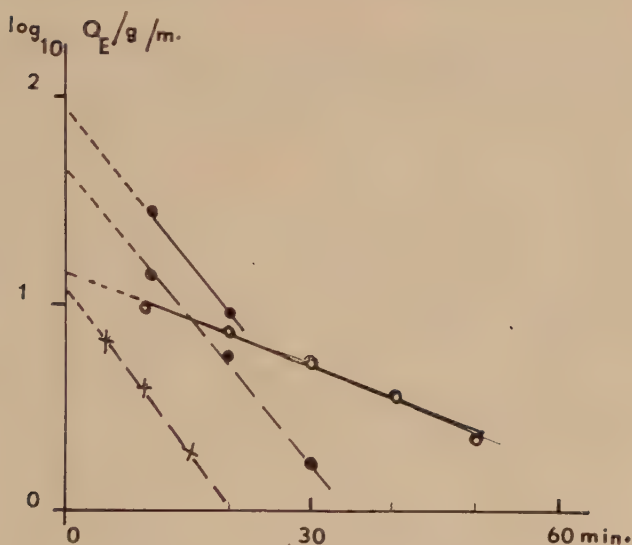
L'évolution normale de l'élimination pendant au moins 15 minutes dans les deux cas permet d'écarter l'éventualité d'une altération fonctionnelle du parenchyme consécutive à l'obstruction biliaire.

Ce fléchissement précoce paraît plutôt imputable au taux relativement réduit de la quantité de colorant intra-hépatique. En cas de stase biliaire, en effet, la quantité de B.S.P. fixée dans les tissus extra-hépatiques est au moins de l'ordre de 20 % de la quantité injectée (tableau 2). Normalement, à la fin de l'épuration sanguine, elle n'est plus que de l'ordre de 10 %. (Tableau 6).

Si l'on porte, en fonction du temps, les logarithmes des quantités moyennes éliminées en une minute (à partir du moment où elles cessent d'être constantes), on obtient, lors de l'épreuve normale, des courbes parallèles à celles déterminées par la décroissance des quantités éliminées par minute après l'injection de 0,5 ou 1 mg. (Graphique 18). Les deux courbes obtenues, dans les mêmes conditions, après ligature temporaire du cholédoque contrastent, par un ralentissement marqué. Leur extrapolation indique que la quantité intéressée est inférieure dans ce cas à celle normalement mise en jeu.

GRAPHIQUE 18

Evolution de $Q_E/g/m$ en fonction du temps.



Les logarithmes décimaux de $Q_E/g/m$ (quantité moyenne de B.S.P., en microgrammes, éliminée par 1 gramme de foie en une minute au cours d'une période de récolte) sont inscrits en fonction du temps (en minutes) écoulé depuis l'injection.

— — — — — : Courbes totales, après une dose de 0,5 mg (X) et de 1 mg (●) de B.S.P.

— — — — — : Courbes correspondant à la phase exponentielle de l'accroissement de Q_{Et} , après l'injection de 5 mg de B.S.P. (●), normalement et (○) après 60 minutes de stase biliaire (rat n° 12).

Tout se passe comme si la quantité intra-hépatique de colorant, après occlusion temporaire du cholédoque, était, en fin d'épuration sanguine, inférieure à celle qui reste dans l'organe à la même période au cours de l'épreuve ordinaire. Mais aussi, comme si cette quantité était renouvelée à mesure que se poursuit l'élimination probablement par récupération des quantités accumulées dans les divers tissus.

2°) *Par agression élective.*

Le cyanure de potassium KCN exerce sur la plupart des enzymes un puissant effet inhibiteur.

Son action sur la cytochromoxydase détermine un ralentissement considérable de la respiration cellulaire. Mais pour intense qu'elle soit, elle dure peu : une diastase, la rhodanèse, surtout abondante dans le foie et les reins, transforme rapidement le cyanure en thiocyanate inactif.

Cette anoxie cytotoxique retentit sur le débit biliaire qu'elle réduit considérablement, comme l'on montré les premiers, HOBBER et TITAJEW (1930), au cours de travaux sur le foie isolé de grenouille, perfusé par une solution physiologique.

Des essais comparables ont été réalisés par J. VALERENBERGHE (1959) sur le foie de rat, isolé et perfusé par une solution de sang de rat.

Cet auteur observe une diminution importante du débit biliaire après l'adjonction du KCN au perfusat.

Qualitativement, la bile émise n'est pas modifiée. L'extrait sec, en particulier reste de même ordre. Le débit sanguin transhépatique demeure également inchangé.

L'élimination biliaire de la B.S.P. est diminuée, 62 % seulement de la quantité injectée sont récupérés en 3 heures, contre 95 % si le perfusat n'a pas contenu de KCN. Mais, pour VALERENBERGHE, cette décroissance est liée à celle du débit. Il admet que l'allongement du temps d'apparition de la B.S.P. dans la bile collectée est dû à la perte de vitesse résultant du parcours d'un même espace mort (canalicules biliaires et cathéter) par un volume réduit. Ceci expliquerait également la chute, qui serait donc purement apparente, de la concentration biliaire du colorant, le petit volume excrété sous l'influence du toxique se diluant dans la bile déjà présente dans l'espace mort.

1. — *Action d'une dose de 1 mg de KCN sur l'épuration sanguine et l'élimination biliaire d'une dose de 5 mg de B.S.P.*

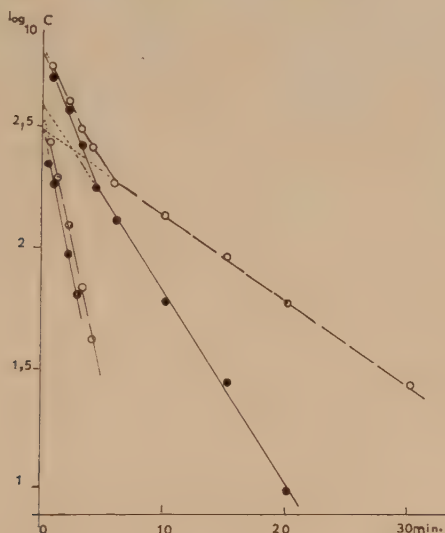
L'injection, par voie intra-péritonéale, de doses de 1 mg de KCN (par fraction de 100 g de poids corporel) à condition d'employer des solutions suffisamment étendues (un pour mille) et de les administrer lentement, est pratiquement bien supportée par le rat.

Un rat de 275 g, anesthésié par une dose unique de nembutal (3 mg par 100 g de poids) et porteur d'une fistule biliaire extemporanée, reçoit une première dose de 5 mg de B.S.P.

Lorsque 90 % de la quantité injectée ont été récupérés dans la bile (5 heures après l'injection), on injecte lentement dans le péritoine

GRAPHIQUE 19

Action de KCN sur l'épuration sanguine d'une dose de 5 mg de B.S.P. par fraction de 100 g de poids corporel chez le rat.



Courbes expérimentales et leurs composantes rapides.

Les logarithmes décimaux des concentrations sanguines (en microgrammes par ml) sont portés en fonction du temps (en minutes) écoulé depuis l'injection.

(●) Normalement.

(O) Après KCN.

une dose de 1 mg de KCN (par fraction de 100 g de poids corporel). L'animal ne manifestant pas de troubles apparents, 10 minutes après, on lui donne une seconde dose de 5 mg de B.S.P.

Le graphique 19 schématise les deux courbes d'épuration sanguine dont voici les caractéristiques :

	C_0	C_{AO}	C_{EO}	K_A	K_L	P_A	P_E
Avant KCN	700 (100 %)	310 (44 %)	390 (56 %)	0,250	0,080	1,270	0,550
Après KCN	665 (100 %)	350 (52,7 %)	315 (47,3 %)	0,230	0,035	1,400	0,192

C_0 , C_{AO} , C_{EO} : en microgrammes par ml de sang et en pourcentage de C_0 .

K_E , K_A : Calculés à partir des logarithmes décimaux des concentrations sanguines.

P_A , P_E : en mg, calculé pour 100 g de poids.

Les perturbations causées par le KCN retentissent exclusivement sur le segment terminal de la courbe : la vitesse de la décroissance de la concentration sanguine y est réduite de 56,5 %. Par contre, la com-

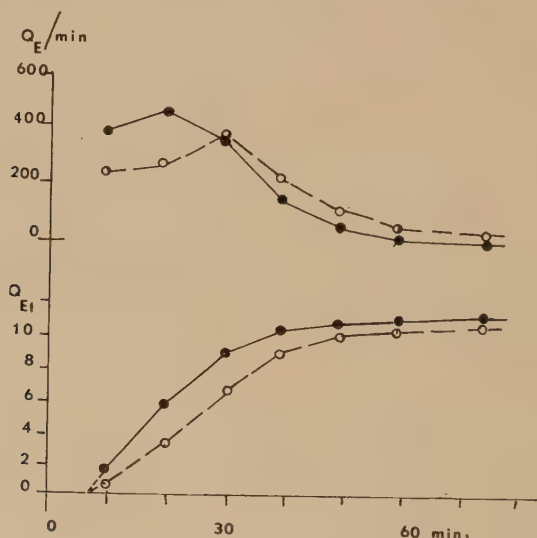
posante rapide, d'accumulation hépatique, ne montre pas de changement. La vitesse d'épuration est conservée, puisque $K_A = 0,230$ contre 0,250. Seule la quantité concernée par le processus est légèrement augmentée, elle passe de 44 à 52,7 % de la quantité injectée.

Le ralentissement de l'épuration sanguine correspond à une diminution de l'élimination biliaire du colorant. L'effet observé dure peu. Après 30 minutes, soit 40 minutes après l'injection de KCN, la concentration sanguine décroît normalement pour atteindre 1 % de sa valeur initiale 40 minutes après l'intoxication.

La courbe qui retrace l'évolution des quantités moyennes éliminées par minute pour chaque période de récolte illustre clairement cette corrélation. (Graphique 20).

GRAPHIQUE 20

Action de KCN sur l'élimination biliaire de la B. S. P chez le rat.



Evolution de la quantité de B.S.P. éliminée en moyenne par minute, pendant une période de récolte, par gramme de foie ($Q_E/\text{g}/\text{m}$ en microgrammes) et de la quantité totale excrétée à un temps donné t (Q_{Et} , en mg) en fonction du temps, chez le rat normal (●) et chez le rat intoxiqué (○) après l'injection d'une dose de 5 mg de B.S.P. par fraction de 100 g de poids corporel.

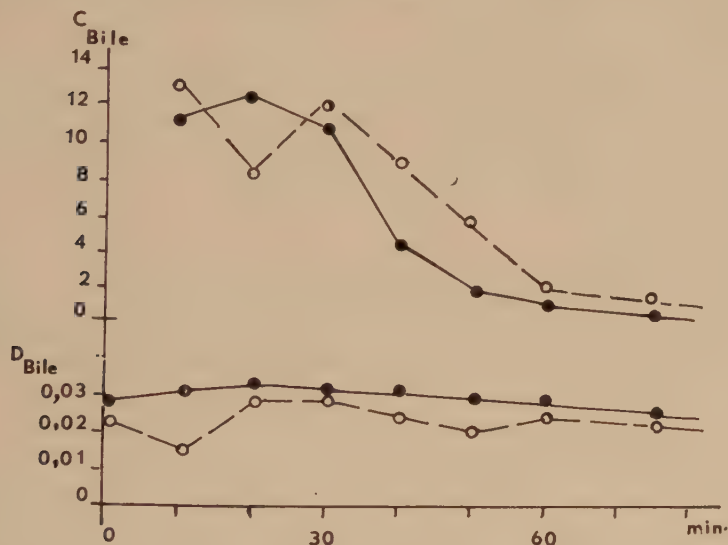
L'élimination biliaire de la B.S.P. est réduite de 38 à 40 % pendant au moins 15 minutes. Puis, l'action du toxique diminuant d'intensité, elle croît au cours des 10 minutes suivantes, dépasse légèrement la normale, pour diminuer ensuite, parallèlement à la courbe obtenue chez l'animal sain, tout en conservant des valeurs un peu supérieures.

Il en résulte, comme le démontre la courbe représentant la sommation des quantités de B.S.P. recueillies au cours de l'expérience, que 90 minutes après l'injection de la B.S.P. (100 minutes après celle du KCN, les quantités totales éliminées sont les mêmes que chez le rat normal : 12,235 mg après KCN contre 12,557 normalement.

Le débit biliaire est transitoirement diminué de 30 % de sa valeur de base pendant les dix premières minutes qui suivent l'injection du colorant. Brusquement, il s'accroît et dépasse de 30 % sa valeur initiale. Cette augmentation accompagne, comme on l'a déjà signalé chez les animaux normaux, l'excrétion de la B.S.P. à de fortes concentrations. Le premier échantillon de bile récolté accuse en effet, compte tenu du temps de latence, une concentration de 13,5 mg par ml, le maximum normalement observé étant de 13,6 mg en moyenne. (Graphique 20 bis.)

GRAPHIQUE 20^{bis}

Action de KCN sur l'élimination biliaire de la B. S. P. chez le rat.



Evolution de la concentration biliaire de la B.S.P. (C_{Bile}, en mg/ml) et du débit biliaire (D_{Bile}, en ml/m) en fonction du temps (en minutes), chez le rat normal (●) et chez le rat intoxiqué (O), après l'injection de 5 mg de colorant par fraction de 100 g de poids corporel.

C'est donc bien la chute du débit biliaire qui entraîne la diminution de 38 % qui affecte la quantité partielle récoltée au début de l'épreuve.

L'accroissement qu'il présente ultérieurement s'accompagne d'une baisse de la concentration, de sorte que la quantité éliminée au cours de la seconde période de récolte demeure inférieure de 40 % à la normale. Avec la stabilisation du débit, la concentration retrouve une valeur élevée, 12 mg, et les valeurs décroissantes qu'elle atteint ensuite restent supérieures à celles obtenues au même moment au cours de l'épreuve précédente. A la 90^e minute, les deux courbes se superposent. Le débit biliaire a baissé, en même temps que la concentration, et suit, après la 60^e minute, une évolution très comparable à celle décrite chez le rat non intoxiqué.

Il ressort de cette expérience :

— que le KCN a diminué précocement le débit biliaire mais n'a pas empêché son accroissement sous l'influence de l'excrétion de la B.S.P. ;

— qu'il n'a pas altéré l'aptitude des cellules parenchymateuses à concentrer le colorant ;

— enfin, qu'il ne modifie, dans ces conditions expérimentales, ni le débit sanguin fonctionnel transhépatique, ni l'accumulation hépatique de la B.S.P.

Ces résultats légitiment la méthode d'analyse de la courbe expérimentale d'épuration sanguine, puisque les perturbations apportées par le KCN à l'élimination biliaire de la B.S.P. se traduisent uniquement par le ralentissement de la composante lente.

Cette altération bien définie de la courbe expérimentale révèle la diminution de l'activité excrétrice des cellules du parenchyme hépatique lorsque leur masse demeure constante et que les conditions circulatoires à travers l'organe ne sont pas modifiées. C'est donc l'illustration d'un cas particulièrement simple de l'interprétation d'une courbe d'épuration sanguine de la B.S.P. au cours d'un état pathologique.

II. — *Comparaison entre les courbes d'épuration sanguine et d'élimination biliaire différée de la B.S.P. chez deux rats dont le cholédoque est transitoirement oblitéré. L'un d'eux a reçu une dose de KCN au moment de l'arrêt de l'écoulement biliaire.*

Ces deux animaux ont été sélectionnés, car leurs poids sont très voisins, ainsi que les poids relatifs de leurs foies (calculés pour 100 g de poids corporel).

— Le rat n° 12 (360 g) dont le foie pèse 13,200 g (soit un poids relatif de 3,650 g), porteur d'une fistule biliaire extemporanée, reçoit, 10 minutes après l'oblitération du cathéter engagé dans le cholédoque, une dose de 5 mg de B.S.P. (par fraction de 100 g de poids corporel). L'épuration sanguine est suivie pendant 60 minutes. Après quoi, le débit biliaire est rétabli.

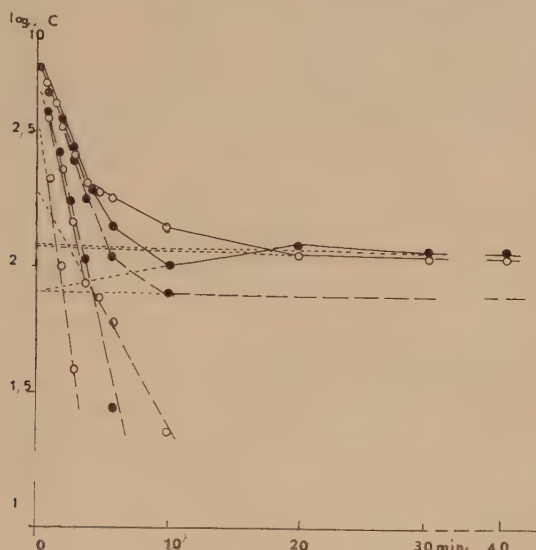
— Le rat n° 11 (380 g) dont le foie pèse 13,500 g, ce qui correspond à un poids relatif de 3,550 g, porteur d'une fistule biliaire extemporanée, reçoit dans le péritoine au moment où l'on obture le cathéter, 0,525 mg de KCN (en solution à 1 pour mille). Comme il ne manifeste aucun trouble apparent, on lui injecte, 10 minutes après, une dose de 5 mg de B.S.P. L'épuration sanguine est suivie pendant 50 minutes, puis le débit biliaire est libéré.

Le graphique 21 représente les courbes d'épuration sanguine de ces deux animaux. Depuis l'injection de la B.S.P. jusqu'à la 4^e minute consécutive, elles sont pratiquement confondues, s'individualisent ensuite, pour se rejoindre à nouveau à la 20^e minute en un même équilibre.

Dans l'intervalle, la courbe du rat n° 12 présente un manifeste accroissement de la concentration. Il est possible de corriger la courbe comme il est indiqué sur le graphique 5.

GRAPHIQUE 21

Action de KCN sur l'épuration sanguine d'une dose de 5 mg de B. S. P.
injectée au rat 10 minutes après la ligature du cholédoque.



Rat n° 12 (F/100 g = 3,650 g) témoin : cholédoque ligaturé 10 minutes avant l'injection de la B. S. P. :

● ——— : Courbe expérimentale.

● ——— : Courbe corrigée et ses composantes d'accumulation tissulaire.

Rat n° 11 (F/100 g = 3,550 g) a reçu 0,525 mg de KCN par fraction de 100 g de poids corporel en même temps que le cholédoque est ligaturé 10 minutes avant l'injection de la B. S. P.

○ ——— : Courbe expérimentale.

○ ——— : Courbe corrigée et ses composantes d'accumulation tissulaire complexe et rapide.

Les logarithmes décimaux des concentrations sanguines (en microgrammes par ml) sont inscrits en fonction du temps (en minutes) écoulé depuis l'injection de la B. S. P.

La composante d'accumulation tissulaire obtenue en soustrayant la concentration d'équilibre de la courbe expérimentale est simple, dans le cas du rat n° 12 (avec la courbe corrigée comme à partir de la courbe expérimentale, les deux résultantes étant d'ailleurs très voisines). Elle est constituée par deux segments chez le rat n° 11 qui a reçu le KCN. Le premier est confondu avec la courbe déduite de la courbe expérimentale du rat n° 12, le second, plus lent, s'individualise après la 4^e minute, et peut être déterminé jusqu'à la 10^e. La soustraction de cette composante lente de la première partie de la composante d'accumulation tissulaire permet de dégager une composante rapide qui s'apparente aux courbes de fixation hépatique par sa vitesse, $K = 0,320$ et par sa concentration initiale, C_{FO} qui équivaut à 52 % de la concentration initiale C_0 .

Les paramètres qui définissent ces différentes courbes sont réunis dans le Tableau 13.

TABLEAU 13

RECAPITULATION DES DIVERS PARAMETRES QUI DEFINISSENT L'EPURATION SANGUINE D'UNE DOSE DE B.S.P. DE 5 mg (par fraction de 100 g de poids) CHEZ LES RATS N^{os} 11 et 12, DONT LE CHOLEDOQUE EST LIGATURE DEPUIS 10 MINUTES, LE RAT N^o 11 AYANT REÇU, AU MOMENT DE L'OBLITERATION, 0,525 mg DE KCN

RAT N ^o	11	12	
	<i>courbe expérimen- tale</i>	<i>courbe expérimen- tale</i>	<i>courbe corrigée</i>
C ₀ : en microgrammes, par ml de sang	670	660	660
C _{Equilibre} : en microgrammes par ml de sang	120	118	32
et en % de C ₀	17,8	17,8	12,4
C _{AO} : en microgrammes par ml de sang	550	542	578
et en % de C ₀	82,2	32,2	87,6
C _{EO} : en microgrammes par ml de sang	350		
et en % de C ₀	52		
K _A : (log 10)	0,200	0,180	0,200
K _F : (log 10)	0,320		
K _a : (log 10)	0,090		

On a vu que l'oblitération du cholédoque, lorsqu'elle précède de 10 minutes l'injection de la B.S.P., n'empêche pas complètement l'excrétion biliaire du colorant, et qu'une quantité fixe, d'environ 0,135 mg par gramme de foie est déversée dans la bile accumulée en amont de la ligature. Chez le rat n^o 12, au moment du rétablissement de l'écoulement biliaire, on a récupéré ainsi un excédent de 4,350 mg, soit 21,7 % de la quantité injectée. Chez le rat n^o 11, c'est 2,3 mg qui ont été retrouvés, soit 12,1 % de la quantité injectée.

Dans le second cas, le KCN a eu pour effet de retarder la vitesse d'élimination du colorant. Le retard dans l'épuration sanguine observé de 4 à 20 minutes, par rapport au témoin non intoxiqué, est la preuve indirecte que cette partie de la courbe est partiellement influencée par la sécrétion persistante de la B.S.P.

Il existe une analogie évidente entre ces courbes et celles du graphique 19 décrivant l'épuration sanguine de la même dose de 5 mg de B.S.P. chez l'animal intoxiqué par le KCN et le témoin normal, pour la période comprise entre 0 et 10 minutes après l'injection.

C'est le ralentissement dû à l'action du KCN qui permet d'isoler la composante rapide d'accumulation hépatique en allongeant le temps pendant lequel la fixation extra-hépatique compliquée d'une faible élimination intervient dans l'épuration sanguine dans des proportions suffisantes pour qu'on puisse le faire intervenir dans les calculs.

Cette composante lente intéresse 30 % de la quantité totale injectée. Puisqu'on retrouve dans la bile une fraction de 12 % de cette quantité, c'est qu'il ne reste plus qu'une proportion de 18 % de la quantité injectée susceptible d'être accumulée dans les tissus extra-hépatiques.

C'est précisément l'ordre de grandeur des résultats rapportés dans le Tableau 6.

Enfin, ce processus cesse évidemment lorsque la concentration sanguine atteint la valeur d'équilibre, soit entre 120 et 118 microgrammes par ml de sang, pour les rats n^{os} 11 et 12.

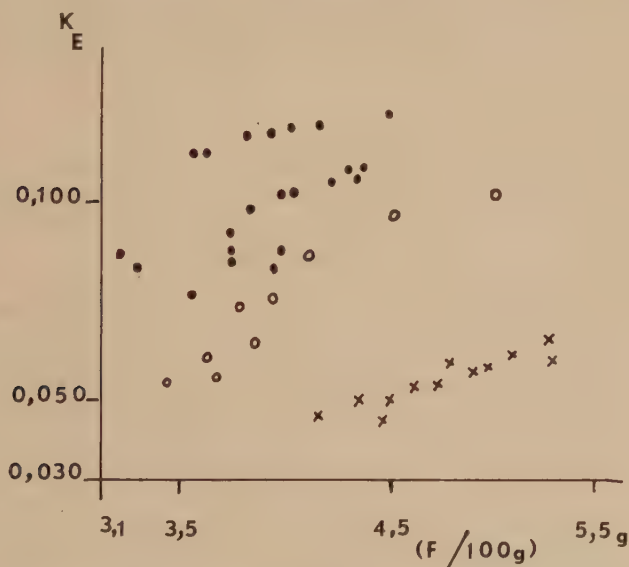
On voit également sur le Tableau 6 que la fixation extra-hépatique cesse pour une concentration de même ordre : lorsque la concentration atteint 100 à 110 microgrammes, les concentrations musculaires commencent à décroître.

Le segment lent de la composante d'accumulation tissulaire rend donc compte de la fixation extra-hépatique du colorant, et en même temps, d'un phénomène d'élimination dans la bile. Il faut remarquer que sa pente $K_r = 0,090$ est du même ordre que celle obtenue pour la composante lente de la courbe expérimentale d'épuration sanguine d'une même dose de 5 mg, chez le rat n^o 12 avant intoxication.

III. — Evolution de K_E en fonction du poids du foie.

GRAPHIQUE 22

Evolution de K_E en fonction de $F/100$ g (●) chez le rat normal et après anesthésie (O : nembutal, X : éther).



K_E : décrétement logarithmique de la composante lente, ou d'excrétion biliaire, de la courbe d'épuration sanguine d'une dose de 5 mg par fraction de 100 g de poids corporel de B. S. P.

$F/100$ g : poids du foie calculé pour 100 g de poids corporel.

Le graphique 22 montre, comme il fallait s'y attendre après les résultats exposés dans ce chapitre, que K_E croît avec le poids relatif du foie (calculé pour 100 g de poids corporel).

CONFRONTATION DES RESULTATS : L'ANALYSE QUANTITATIVE DE LA COURBE EXPERIMENTALE D'EPURATION SANGUINE

La possibilité d'isoler deux composantes, d'accumulation hépatique et d'élimination biliaire, permet, à partir des seules courbes expérimentales d'épuration sanguine, l'étude quantitative de ces deux processus.

I. — Dose de B.S.P. de 5 mg, par fraction de 100 g de poids corporel.

On connaît, par mesure directe :

— la décroissance de la concentration sanguine en fonction du temps. L'extrapolation de la courbe à l'origine détermine une concentration initiale, C_0 , généralement équivalente au quotient de la quantité injectée (Q), par volume sanguin, puisque la B.S.P., liée à l'albumine plasmatique ne diffuse pas hors du lit vasculaire et que les dosages sont effectués sur sang total;

— la quantité Q_E/m , ou quantité de B.S.P., en mg, éliminée en une minute par le foie entier. Lorsque la dose est au moins de 5 mg (par fraction de 100 g de poids corporel), elle est constante pendant toute la durée de l'épuration sanguine et proportionnelle au poids de l'organe.

D'autre part, il a été démontré expérimentalement :

— que la composante rapide décrit la fixation dans le foie d'une fraction de la B.S.P. injectée, fraction (Q_{AO}) équivalente au produit de la concentration initiale (C_{AO}) (obtenue par extrapolation de la composante rapide), par le volume sanguin;

— que la composante lente, de pente (K_E) est déterminée par l'élimination biliaire du colorant;

— que cette élimination commence dès après l'injection comme le prouve l'examen du graphique 17. On peut y mesurer la quantité de B.S.P. accumulée dans les voies biliaires et le cathéter en cas d'occlusion temporaire du cholédoque. Elle est égale à celle qui est recueillie, quand l'élimination s'effectue librement, pendant un intervalle de temps équivalent au temps de latence (t_L) observé pendant la première période de récolte. Ceci autorise l'extrapolation de la composante lente à l'origine. De la concentration (C_{EO}) ainsi déterminée, on tire (Q_{EO}), la quantité de colorant extraite du sang suivant K_E ;

— que la fixation extra-hépatique de la B.S.P., pour une telle dose (5 mg), est relativement faible. On l'a donc négligée dans cette analyse.

L'épuration s'effectuant exponentiellement, on admet par conven-

tion, que le processus déterminant cesse d'être efficace lorsque la concentration initiale a décréu de 99 % de sa valeur.

En conséquence, au moment (T) où sur la composante rapide, la concentration est égale à 1 % de (C_{AO}), l'accumulation hépatique, croissante depuis l'origine, atteint son maximum. Le foie contient une quantité de B.S.P. égale à (Q_{AO}) qui va désormais décroître (graphique 8). C'est le moment où sur la courbe expérimentale, la composante lente s'individualise.

1°. — La notion de concentration d'équilibre.

La concentration d'équilibre, C_{Eq} , est la concentration sanguine au temps T, où la concentration hépatique passe par un maximum.

A cet instant, le foie contient la quantité Q_{AO} , diminuée dans la minute qui suit de la quantité $Q_{E/m}$, éliminée dans la bile.

Corollairement, la quantité de B.S.P. extraite du sang par le foie pour compenser cette perte est, par définition, au plus égale à $Q_{E/m}$.

Deux méthodes permettent de calculer C_{Eq} et partant, la quantité Q_{Eq} correspondante.

— A partir de la composante rapide. C_{Eq} est la concentration sanguine au moment où la concentration hépatique passe par un maximum, c'est-à-dire lorsque sur la composante rapide, la concentration est égale à 1 % de C_{AO} .

— D'autre part, si la B.S.P. est dosée dans la bile, $Q_{E/m}$ est connue directement. L'épuration sanguine se faisant exponentiellement, le pourcentage de Q_{Eq} épuré suivant K_E , dans la minute qui succède au temps T, est au plus égal à $Q_{E/m}$. On peut écrire :

$$Q_{Eq} = \frac{Q_{E/m} \cdot 100}{2,3 K_E}$$

et l'on déduit C_{Eq} de

$$\frac{C_{Eq}}{C_0} = \frac{Q_{Eq}}{Q}$$

Les valeurs trouvées pour C_{Eq} , par l'une et l'autre méthode, et pour chaque animal, sont relevées dans le Tableau 14. Elles sont très comparables, puisque l'on a, par analyse de la courbe suivant K_A

$C_{Eq} = 123$ microgrammes (par ml de sang)
et par la mesure directe de $Q_{E/m}$,

$C_{Eq} = 125$ microgrammes.

Soit 16,5 % de la concentration initiale C_0 . Valeur qui rappelle celle obtenue en cas d'occlusion biliaire extemporanée, le rapport d'équilibre étant alors de 20,6 % expérimentalement. Mais après correction de la courbe pour l'accroissement de concentration observé entre 10 et 20 minutes, ce rapport abaissé de 4 à 5 % devient tout à fait comparable au chiffre rapporté ici.

TABLEAU 14

COMPARAISON ENTRE LES VALEURS EXPERIMENTALES
ET THEORIQUES DE C_{Eq} (Concentration sanguine au moment où la
concentration intra-hépatique est maximale) ET DE Q_E/m (quantité de B.S.P.
éliminée dans la bile en une minute par le foie entier).

RAT N°	C_{Eq} , en microgrammes par ml de sang		Q_E/m , en mg	
	1	2	1°	2°
3	149	158	0,400	0,425
4	127	127	0,275	0,275
6	115	115	0,360	0,360
9	121	115	0,380	0,665
10	111	102	0,450	0,415
11	110	100	0,360	0,340
12	126	132	0,500	0,525
13	88	93	0,420	0,440
15	93	100	0,410	0,440
16	125	118	0,560	0,525
17	89	92	0,590	0,610
18	147	148	0,520	0,510

1 — Calcul effectué sur Q_E/m effectivement mesurée dans la bile.
2 — Calcul effectué suivant K_A .
1° — Valeurs expérimentales.
2° — Valeurs calculées en utilisant C_{Eq} déterminée suivant K_A .

2°. — Calcul de Q_E/m , d'après la courbe expérimentale d'épuration sanguine.

Puisque la dose injectée (5 mg) est suffisante pour que l'activité sécrétoire des cellules soit intégralement mobilisée, Q_E/m demeure constante pendant la durée de l'épuration sanguine.

Il est possible, en déterminant C_{Eq} par analyse de la courbe expérimentale de calculer cette quantité constante éliminée par minute pendant la durée de l'épuration.

D'après ce qui précède, en effet, on a

$$Q_E/m = \frac{Q_{Eq} \cdot 2,3 K_E}{100}$$

Les valeurs de Q_E/m effectivement mesurées dans la bile et celles obtenues par le calcul sont présentées dans le Tableau 14. Le calcul donne une valeur moyenne

$$Q_E/m = 0,427 \text{ mg}$$

et la mesure directe par dosage biliaire :

$$Q_E/m = 0,430 \text{ mg}$$

3°. — Calcul du poids du foie.

Les résultats qui précèdent permettent d'évaluer l'ordre de grandeur du poids du foie chez l'animal vivant et sans récolte biliaire. La

quantité Q_E m est connue par analyse de la courbe expérimentale d'épuration sanguine, on sait d'autre part qu'un foie normal excrète au maximum (graphique 15) de 35 à 40 microgrammes par gramme en une minute. Si F est le poids du foie en grammes, on a

$$F_g = \frac{Q_E/m}{37}$$

Pour les 12 animaux présentés dans le Tableau 15, on trouve en moyenne, 11,790 g par le calcul, contre 11,900 g effectivement pesés.

TABLEAU 15

$$POIDS DU FOIE CALCULÉ SUIVANT $F (g) = \frac{Q_E/m}{37}$$$

- F (g) : Poids du foie en grammes.
- Q_E m : Quantité de B.S.P. maximale éliminée dans la bile en une minute par le foie entier.
- 37 (microgrammes) : Quantité moyenne éliminée en une minute par un gramme de foie (graphique 15).

RAT N°	POIDS DU FOIE	
	Pesé	Calculé
3	10,300	11,400
4	7,750	7,450
6	11,000	9,700
9	11,500	10,000
10	11,200	11,200
11	13,520	9,300
12	13,200	14,200
13	13,500	11,900
15	12,600	11,900
16	13,200	14,200
17	14,600	16,500
18	11,500	13,800
Moyenne	11,900	11,790

4°. — Le rapport d'équilibre entre la quantité intra-hépatique maximale, Q_{AO} , et la quantité Q_{Eq} présente dans le sang au temps T.

Le Tableau 16 rapporte les différentes valeurs Q_{AO} , Q_{Eq} obtenues en calculant Q_{AO} par analyse de la courbe expérimentale, et Q_{Eq} à partir de Q_E m effectivement mesurée dans la bile. Toutes ces quantités sont exprimées en pourcentage de la quantité totale injectée Q. On a également calculé, pour permettre de comparer les résultats obtenus, leurs valeurs respectives en pourcentage de la somme $Q_{AO} + Q_{Eq} = 100$.

La valeur moyenne, pour les animaux en expérience, a été trouvée égale à $\frac{48}{17,2}$ soit $\frac{73,5\%}{26,5\%}$.

TABLEAU 16
RECAPITULATION DES VALEURS PRISES PAR LES RAPPORTS
 Q_{AO}/Q_{Eq} et $C_{Hep\ M}/C_{Eq}$.

RAT N°	T	Q_{AO}/Q_{Eq}		$C_{Hep\ M}/C_{Eq}$	
		(en % de Q)	(en % de $Q_{AO} + Q_{Eq}$)	(en microgr.) /g	(en % de $C_{Hep\ M} + C_{Eq}$)
3	4,6	57,5/22,5	72 /28	800/149	84/16
4	4,7	32 /19	63 /37	580/127	82/18
6	5,4	61 /15,5	80 /20	770/115	87/13
9	7,5	45,5/22,3	67 /33	595/115	83/17
10	7,6	44 /14,5	75 /25	595/100	86/14
11	7,6	64 /15,4	81 /19	900/100	90/10
12	7,8	42,5/19	69 /31	645/132	83/17
13	6,4	56 /14,5	79 /21	760 / 21	89/11
15	6,3	42 /14	75 /25	470/100	83/18
16	5,3	48 /16,2	75 /16,2	520/118	82/18
17	5,8	35 /16,1	68,5/31,5	365/ 92	80/20
18	5,4	50 /18,6	72 /28	675/148	82/18
Moyenne	6,2	48 /17,2	73,5/26,5	635/115	85/15

- Q_{AO} % de Q : Quantité de B.S.P. maximale fixée dans le foie au temps T.
- Q_{Eq} % de Q : Quantité de B.S.P. présente dans le sang au même instant.
- $C_{Hep\ M}$: Concentration hépatique de la B.S.P. au temps T.
- C_{Eq} : Concentration sanguine au même instant.

Au cours de l'étude cinétique de l'accumulation tissulaire, la valeur expérimentalement mesurée à $T = 5$ minutes est de $\frac{46}{20,3} = \frac{69}{31} \%$.

Le tableau 16 comporte également le rapport entre la concentration hépatique maximale ($C_{Hep\ M}$) et la concentration d'équilibre C_{Eq} , en valeur absolue et en pourcentage de la somme $C_{Hep\ M} + C_{Eq} = 100$.

La moyenne obtenue s'élève à $\frac{63,5}{11,5}$ (en mg/100 g) et $\frac{85}{15} \%$.

Au cours de l'étude cinétique de l'accumulation tissulaire, les valeurs correspondantes, déterminées au temps $T = 5$ minutes, s'élèvent à $\frac{47,2}{12,3}$ (en mg par 100 g de tissu frais ou de 100 ml de sang.

Soit $\frac{79,5}{20,5} \%$.

4°. — *Calcul de K'_A . Cette constante caractérise la vitesse de l'épuration sanguine destinée à compenser la décroissance de la quantité de B.S.P. intra-hépatique due à l'élimination biliaire du colorant.*

Ce calcul dérive de l'hypothèse exposée plus haut et des résultats qu'elle a suscités (Tableau 14).

Au temps T où la concentration hépatique du colorant cesse de s'accroître, la quantité de B.S.P. éliminée dans la bile est remplacée, pendant au moins un cours instant, par une quantité équivalente extraite du sang par le parenchyme hépatique.

Soit Q_E/m la quantité effectivement éliminée, dosée dans la bile, pendant la période T à T + 1 minute. Exprimée en pourcentage de la valeur de Q_{Eq} (calculée suivant la composante rapide), elle correspond à la valeur de la constante $k_A' = 2,3 K'_A$ caractérisant la vitesse de l'épuration sanguine déterminée par le processus.

Le Tableau 17 montre que les valeurs prises par cette constante (calculée comme K_A' , pour permettre la comparaison) sont tout à fait comparables à celles déterminées pour K_E sur les courbes expérimentales d'épuration sanguine.

Ces résultats permettent de rendre compte de trois observations expérimentales.

a) Ils montrent comment la partie de la courbe expérimentale qui est définie par K_E est déterminée par l'élimination biliaire du colorant, comme on l'avait vérifié par l'expérience.

b) Ils expliquent la relation inverse qui lie la constante K_E à la dose injectée. On a, en effet :

$$2,3 K_E = \frac{Q_E/m \cdot 100}{Q_{Eq}}$$

TABLEAU 17

COMPARAISON ENTRE LES VALEURS DE K'_A , OBTENUES PAR CALCUL ET CELLES DE K_E , DÉTERMINÉES EXPÉRIMENTALEMENT

DOSE	RAT N°	K'_A	K_E
5 mg	3	0,054	0,057
	4	0,049	0,047
	6	0,072	0,073
	9	0,049	0,051
	10	0,087	0,080
	11	0,053	0,048
	12	0,057	0,060
	13	0,070	0,074
	15	0,092	0,098
	16	0,106	0,100
		0,108	0,110
10 mg	19	0,040	0,040
	20	0,025	0,026

où Q_{Eq} croît directement avec la dose, tandis que Q_E/m en demeure indépendante pour les doses supérieures ou égales à 5 mg.

c) La quantité de B.S.P. extraite du sang pendant la première minute qui suit le temps T étant égale à celle qui a été éliminée pendant cette période, le caractère exponentiel de l'épuration implique que, pour les minutes suivantes, la quantité de colorant qui passe du sang au foie soit inférieure à Q_E/m , et décroisse à mesure que le temps s'écoule.

En conséquence, puisque Q_E/m demeure constante pendant toute la durée de l'épuration sanguine, la quantité de B.S.P. intra-hépatique diminue constamment.

Il est possible de calculer globalement la quantité théorique qui doit rester dans le foie à la fin de l'épuration sanguine. Elle est égale à la somme de Q_{AO} et de Q_{Eq} diminuée de la quantité éliminée dans la bile depuis le temps T jusqu'à la fin de l'épuration sanguine, directement dosée dans la bile.

D'après les valeurs consignées dans le Tableau 18 on constate que la quantité moyenne demeurant ainsi dans le foie à la fin de l'épuration sanguine doit s'élever à 18,3 % de la quantité injectée.

Or, le Tableau 6 montre qu'au moment où la quantité de B.S.P. qui reste dans le sang est comprise entre 1,6 et 0,5 % de la quantité injectée, on retrouve effectivement dans le foie, 16,5 et 7,15 % de la quantité injectée.

TABLEAU 18					
EVALUATION DE LA QUANTITE DE B.S.P. RESTANT DANS LE FOIE A LA FIN DE L'EPURATION SANGUINE					
RAT N°	Q_{AO}	Q_{Eq}	$Q_{AO} + Q_{Eq}$	Q_E depuis T	Q_{Hep}
3	57,5	21,5	79	56	23
4	32	19	51	38	13
6	61	15,5	76,5	60	16,5
9	45,5	23,5	69	53	16
10	44	16	60	47	13
11	64	17	81	50	31
12	42,5	18,1	60,6	50	10,6
13	56	13,7	69,7	37	32
15	42	13,4	55,4	38	17,4
16	48	17,3	65,3	46	19,3
17	35	15,5	50,5	40	10,5
Moyenne :					18,3
— Q_{AO} : quantité maximale de B.S.P. fixée dans le foie au temps T . — Q_{Eq} : quantité de B.S.P. présente dans le sang au même moment. — Q_E depuis T : quantité de B.S.P. recueillie dans la bile depuis le temps T . — Q_{Hep} : quantité de B.S.P. restant dans le foie en fin d'épuration sanguine. Toutes ces quantités sont exprimées en % de Q injectée.					

II. — Dose de 15 mg.

On voit sur le graphique 3 qui représente la courbe moyenne d'épuration sanguine de 15 mg de B.S.P. chez cinq rats, comme sur le graphique 9 qui schématise la même expérience, comparativement avec la B.S.P. ordinaire et la B.S.P. marquée par le soufre radioactif chez le rat n° 38, que la soustraction du segment terminal fait apparaître une composante qui présente deux ralentissements successifs.

Mais si l'on retranche le dernier segment, le plus lent, de la partie initiale de cette composante complexe, il se dégage une composante rapide tout à fait comparable à celles dont on a montré qu'elles rendent compte de l'accumulation hépatique du colorant.

La concentration initiale (C_{F0}) que détermine son extrapolation est pour les deux cas, respectivement égale à 44 et 50 % de la quantité injectée, et K_F prend les valeurs habituelles de 0,310 et de 0,330.

Il faut rechercher si la décroissance du segment terminal de chacune des courbes expérimentales est bien liée à l'élimination biliaire dans les conditions précisées plus haut.

Dans le cas du rat n° 38, et sur la courbe correspondant à l'épuration de la B.S.P. ordinaire, le temps T , suivant K_F , est de 6,5 minutes. A ce moment, la concentration sur la courbe expérimentale est de 490 microgrammes (par ml de sang).

On a $K_E = 0,030$, de sorte que suivant 2,3 K_E , c'est 6,9 % de la quantité actuelle qui sont extraits à chaque minute. Mais il faut observer que cette fraction se rapporte, non plus à C_{Eq} sur la courbe expérimentale, mais à la valeur correspondante C_{Eq}' , au temps 6,5 minutes, sur la partie extrapolée du segment terminal suivant K_E . Dans ces conditions, $C_{Eq}' = 380$ microgramme. Soit 19 % de C_0 , et $Q_{Eq}' = 2,8$ mg (calculée pour 100 g de rat). Il est possible de calculer Q_E/m . On a

$$Q_E/m = \frac{Q_{Eq} \cdot 2,3 K_E}{100} \quad \text{ou} \quad \frac{2,8 \cdot (2,3 \cdot 0,030)}{100}$$

et $Q_E/m = 0,190$ mg. Ce qui équivaut à l'activité d'un foie de 190/37, soit 5,150 g (pour 100 g de rat). Le poids réel du foie de ce rat est effectivement de 4,900 g pour 100 g de poids corporel.

Ceci justifie l'interprétation suivant laquelle le segment terminal ($K_E = 0,030$) de cette courbe expérimentale représente l'influence de l'élimination biliaire du colorant sur l'épuration sanguine.

Le rapport entre la concentration intra-hépatique maximale, calculée d'après Q_{AO} et la concentration C_{Eq} dans le sang au temps T (déterminée cette fois sur la courbe expérimentale) est

$$\frac{C_{Hep} \cdot M}{C_{Eq}} = \frac{1.540}{490} \quad \text{soit} \quad \frac{76 \%}{24 \%},$$

un peu inférieur à celui de 85/15 trouvé, en moyenne avec la dose de 5 mg.

En analysant suivant le même procédé, la courbe expérimentale moyenne du graphique 3, on obtient pour le poids moyen du foie, une valeur de 4,700 g. Il n'a pas été possible de la confronter à un chiffre objectif, car le foie de ces 5 rats n'a pas été pesé. Mais on

peut remarquer que cette valeur, vraisemblable, donne une concentration intra-hépatique maximale de

$$\frac{15.000 \cdot 44}{100 \cdot 4,7} = 1.400 \text{ microgrammes}$$

La concentration sanguine au temps T (6 minutes) étant, sur la courbe sanguine, de 400 microgrammes, le rapport entre ces deux grandeurs est

$$\frac{1.400}{400} \quad 77,5 \% \quad \text{ou} \quad \frac{77,5 \%}{23,5 \%}$$

Il semble donc possible d'admettre :

1. — Que la composante rapide correspond bien à l'accumulation hépatique de la B.S.P.

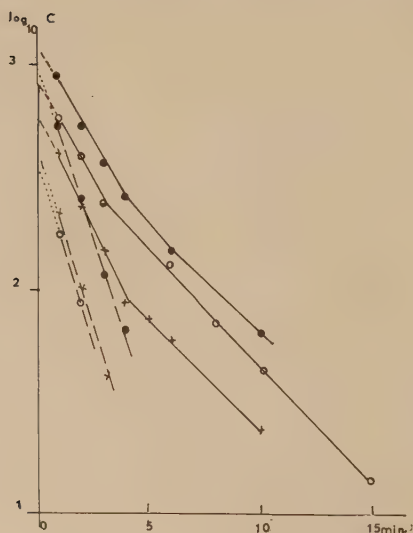
2. — Que le segment terminal de la courbe expérimentale traduit le rentissement de l'élimination biliaire sur l'épuration sanguine.

En conséquence, il est vraisemblable que le segment le plus lent de la composante complexe décrit la fixation tissulaire extra-hépatique du colorant.

Certes, les résultats expérimentaux n'en autorisent pas la démonstration directe. Mais il faut retenir que la quantité extraite du sang à ce titre est de l'ordre de 20 à 23 % de la quantité totale. Ce qui s'accorde avec les chiffres rapportés dans le tableau 8. De plus, sur le graphique 23, on peut comparer les composantes d'accumulation tissulaire des courbes obtenues après injection de 10 mg de B.S.P., après ligature du cholédoque, ou de 5 mg après ligature du cholédoque et injection de KCN, ainsi que la composante complexe d'une courbe

GRAPHIQUE 23

Comparaison entre les composantes d'extraction tissulaire des courbes d'épuration sanguine de différentes doses de B. S. P.



Pour 15 mg (rat n° 37) dans les conditions normales : (●), mais pour 10 mg (courbe moyenne : (O) et 5 mg (rat n° 5 : X) la B.S.P. est injectée 10 minutes après la ligature du cholédoque.

— : Composante complexe.
- - - : Composante rapide.

d'épuration sanguine d'une dose de 15 mg dans des conditions normales d'élimination. Le parallélisme des segments considérés comme décrivant la fixation tissulaire extra-hépatique est aussi frappant que celui des composantes rapides d'accumulation hépatique.

DISCUSSION GENERALE

L'élimination biliaire de la B.S.P., test sensible de l'activité cellulaire du parenchyme hépatique, dépend, quantitativement, de la concentration du colorant dans le foie.

Pour interpréter avec exactitude les courbes d'épuration sanguine de cette substance, dans la perspective d'une étude fonctionnelle des cellules parenchymateuses, il est donc primordial de préciser les conditions de sa fixation hépatique.

La composante rapide la définit quantitativement en déterminant la fraction (Q_{AO}) de la quantité (Q) injectée qui s'accumule dans le foie suivant une loi exponentielle, proportionnellement à K_A .

Si l'on calcule $P_{AO} = Q_{AO} \cdot 2,3 K_A$ (quantité extraite du sang au cours de la première minute d'épuration), P_{AO} croît directement avec la dose. Il s'ensuit que l'efficacité du processus n'est pas modifiée par les variations de la concentration et qu'il n'existe pas, dans ces conditions expérimentales, de saturation du tissu hépatique par la B.S.P. Les plus fortes concentrations mesurées dans le foie sont de 1,500 et 1,340 mg par gramme de tissu frais.

Indépendante également de l'intégrité cellulaire, comme l'ont montré BRAUER et PESSOTTI (1949), BRAUER, PESSOTTI et KREBS (1955), et comme le confirment les cas d'intoxication par le KCN rapportés dans cette étude, l'accumulation de la B.S.P. dans le foie est, par contre, étroitement liée aux conditions circulatoires intra-organiques. On a vu (chapitre 3) comment les variations du débit sanguin sinusoidal entraînent des modifications corrélatives de K_A . Celles-ci influencent à leur tour l'importance des quantités accumulées.

Une dose étant donnée, 7,5 mg, on a comparé chez les rats normaux et chez des animaux dont la ligature d'une veine mésentérique réduit l'apport sanguin portal, les valeurs de K_A et du débit sanguin sinusoidal (par gramme d'organe et par minute (D.S.S.), à celles prises par P_{AO} (pour l'organe entier, et par gramme de foie).

	RATS NORMAUX		VEINE MESENTERIQUE LIGATUREE		
— K_A	0,380	0,320	0,240	0,165	0,130
— P_{AO} (en mg)	2,950	2,100	1,800	1,860	1,780
— P_{AO}/g (en mg)	0,625	—	0,470	0,470	0,410
— D.S.S./g/m (en ml)	1,45	—	1,13	0,75	0,53

Les quantités extraites croissent, faiblement, avec le débit lorsqu'il excède 1 ml. Au-dessous de cette valeur, (P_{AO}) reste pratiquement constant.

Il existe donc une baisse relative dans l'efficacité de l'extraction à mesure que le débit sanguin sinusoïdal augmente. Des résultats de même ordre ont été rapportés par BRAUER, HOLLOWAY et LEONG (1959) au cours d'une étude systématique des relations entre ces deux grandeurs.

Une évolution très comparable est observée lors de l'emploi de substances colloïdales. Bien qu'initiée par un processus différent, leur extraction par les cellules de Kupffer, comme celle de la B.S.P. par les cellules du parenchyme, aboutit au même résultat : l'épuration du sang qui irrigue les sinusoides.

Les mesures obtenues par ces deux procédés ont l'intérêt d'être une évaluation spécifique du débit sanguin physiologiquement actif du foie. Caractère auquel ne peut prétendre, comme on l'a exposé dans l'introduction, la technique de perfusion.

Lorsqu'au temps T succède à l'accumulation hépatique le remplacement des quantités éliminées, suivant K_E , ce paramètre est déterminé par Q_E/m . Mais il traduit également la captation par le foie de la quantité extraite du sang. Dans ces conditions, et comme K_A , il doit dépendre du débit sinusoïdal.

Nombre de rats	F/100 g	K_A	K_E	K_E/K_A
6	3,600	0,271	0,083	0,305
18	4,000	0,312	0,097	0,310
6	4,400	0,322	0,107	0,330
8	5,300	0,256	0,078	0,304

D'une manière générale, les chiffres rapportés ci-dessous montrent que pour les valeurs normales de K_A , le rapport K_E/K_A demeure constant.

On peut essayer de préciser ces notions. Au temps T, où le foie contient (Q_{AO}), quantité maximale qu'il peut fixer de la quantité (Q) injectée, le sang contient (Q_{Eq}).

Si l'épuration continuait à se faire au taux de la composante rapide, la quantité (P_{AT}) extraite du sang entre T et T + 1 minute, serait

$$P_{AT} = Q_{Eq} \cdot 2,3 K_A (Q_{AO} \% Q) \quad (1)$$

Mais à ce moment, l'épuration est déterminée par la chute de la concentration hépatique sous l'influence de l'élimination biliaire, et (P_{AT}) est au plus égale à Q_E/m . Ce qui réduit le taux d'extraction à K_E . On a

$$Q_E/m = Q_{Eq} \cdot 2,3 K_E \quad (2)$$

Le rapport entre (1) et (2) serait finalement,

$$\frac{P_{AT}}{Q_E/m} = \frac{K_A (Q_{AO} \% Q)}{K_E}$$

On sait que pour une dose donnée, les variations de K_A n'entraînent que très faibles variations de (P_{AO}) . De même, dans cette égalité, (P_{AT}) tend à demeurer constant (singulièrement si le débit sinusoidal est réduit), Q_E/m est constant, par expérience, il s'ensuit que le rapport ne varie pratiquement pas et qu'en conséquence, K_E doit être proportionnel à K_A .

Ceci comporte une conséquence très importante. K_E peut donc diminuer, sans pour cela que Q_E/m soit modifié, simplement en fonction du débit sinusoidal. Ce paramètre ne peut donc, sans discussion, être interprété comparativement, comme il est coutume de le faire, pour juger de l'activité sécrétoire du foie. Il faut s'assurer que le débit sinusoidal est de même ordre chez les témoins et dans le groupe présentant d'hypothétiques lésions du parenchyme.

La correction de K_E en fonction des variations de K_A fait l'objet d'un travail ultérieur portant sur l'épuration sanguine de la B.S.P. au cours de divers états physiopathologiques provoqués.

La répartition de la B.S.P. entre le sang et le parenchyme hépatique est caractérisée par le fait qu'il s'établit dans tous les cas, aussi bien in vitro — comme l'ont montré BRAUER et PESSOTTI (1949) — qu'in vivo, un rapport constant, indépendant de la dose.

On l'a constaté (chapitre 2) lorsque la ligature du cholédoque s'oppose à l'élimination biliaire : le rapport entre la quantité accumulée dans le foie, 5 minutes après l'injection, et celle qui reste dans le sang est de 75/25 (si 100 est la somme de ces deux quantités). Chez l'animal normal, les résultats sont de même ordre. Si $Q_{AO} + Q_{Eq} = 100$ on a $Q_{AO}/Q_{Eq} = 75,5/24,5$ (tableau 16).

Il ne semble pas que cette limite à la captation hépatique du colorant soit liée à l'apparition des métabolites dans le sang.

KREBS (1959) a montré que l'affinité de ces produits pour les tissus est réduite, comparativement à celle de la B.S.P. originelle.

Mais le temps T, où cesse l'accumulation du colorant dans le foie est, en moyenne, de 6,2 minutes. Et la concentration C_{Eq} s'élève à 17,9 % de la concentration sanguine initiale.

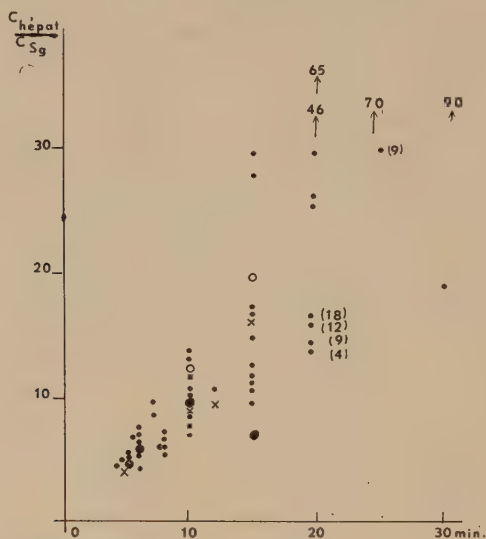
C'est plus tardivement, de 10 à 15 minutes après l'injection, que KREBS décèle dans le plasma les dérivés de la B.S.P. Ce n'est qu'à la 20^{me} minute que le composé 2 qui constitue alors 40 % du colorant restant dans le sang, exerce un effet de ralentissement évident sur la vitesse d'épuration.

D'autre part, quand cet auteur injecte isolément le composé 2, ce corps n'est modifié ni dans le sang ni dans la bile. Néanmoins, 15 minutes après l'injection, 50 % de la dose ont quitté le plasma, contre 25 % seulement au cours des 45 minutes suivantes. Le ralentissement de l'efficacité d'extraction n'est donc pas nécessairement lié à une modification de la molécule du colorant.

La quantité de B.S.P. contenue dans le foie à un temps donné t (supérieur à T) peut être considérée comme au plus égale à Q_{AO} diminuée de la quantité éliminée au temps considéré, et accrue de la quantité extraite du sang entre T et t. Le graphique 24 retrace l'évolution du rapport entre la concentration hépatique calculée sur ces bases et la concentration sanguine, en fonction du temps, pour chacun des rats dont l'épreuve comporte la récolte de la bile. On

GRAPHIQUE 24

Evolution en fonction du temps du rapport entre les concentrations intra-hépatique et sanguine de la B.S.P. après injection d'une dose de 5 mg (par fraction de 100 g de poids corporel) chez le rat normal.



● Valeurs calculées pour chaque animal

Rat n° 16 : ● : Rapport expérimental.

O : Rapport corrigé (voir texte).

X : Valeur obtenue lorsque la concentration intra-hépatique est effectivement mesurée (tableau 6).

Les chiffres situés entre parenthèses correspondent à un rat déterminé.

Les chiffres qui surmontent une flèche expriment la valeur du rapport lorsqu'elle se situe en dehors de l'échelle.

peut la comparer à la courbe moyenne déterminée à partir des valeurs de la concentration hépatique effectivement mesurées (tableau 6).

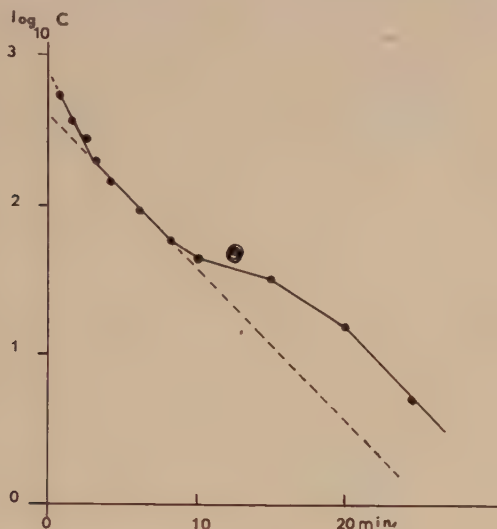
Dans 5 des 12 cas rapportés, il existe à la 15^{me} minute après l'injection, un ralentissement de K_E sans modification parallèle de l'élimination biliaire. Pour ces 5 animaux, les valeurs calculées ci-dessus, au lieu de croître rapidement avec le temps, demeurent basses.

Une dissociation aussi nette implique qu'un fait nouveau est intervenu : vraisemblablement cette fois, l'apparition des métabolites. Le temps, la valeur de la concentration sanguine s'accordent avec les données expérimentales de KREBS (1959). La dissociation entre le ralentissement de l'épuration et la constance de l'élimination impliquant que le phénomène est localisé à la masse sanguine, confirme l'hypothèse.

Le cas du rat N° 16 (graphique 25) est particulièrement démonstratif : le rapport $C_{\text{Hep}}/C_{\text{Sg}}$ devient à la 15^{me} minute, inférieur à la valeur calculée pour la 10^{me}. Mais si l'on extrapole le segment 6 minutes — 10 minutes de la courbe d'épuration sanguine, il est possible d'obtenir les valeurs qu'aurait prises la concentration sanguine sans cet accident. Les rapports calculés avec ces données s'accordent avec la courbe normale du graphique 24.

GRAPHIQUE 25

Courbe expérimentale d'épuration sanguine d'une dose de 5 mg de B. S. P. (par fraction de 100 g de poids corporel). Rat n° 16.



Les logarithmes décimaux des concentrations sanguines (en microgrammes par ml) sont portés en fonction du temps (en minutes) écoulé depuis l'injection.

Ultérieurement, vers la 20^{me} minute, K_E s'accroît brusquement. Une explication simple en peut être donnée. On peut, suivant le procédé rappelé plus haut, calculé approximativement la quantité de B.S.P. qui reste dans le foie. On a vu (tableau 18) qu'elle est de l'ordre de 18,3 % de la quantité injectée. Autrement dit, dans les cas discutés, où la dose est de 5 mg, inférieure à 1mg. Dans ces conditions, il est normal que l'élimination biliaire d'une telle quantité, et par suite l'épuration sanguine concomittante présentent les caractères observés lors de l'injection de doses de cet ordre.

Il reste à souligner qu'il existe des perturbations de l'accumulation tissulaire telles, qu'elles rendent impossible toute relation précise entre l'épuration sanguine de la B.S.P. et les fonctions du foie.

L'une de celles qui a suscité le plus de controverses est la présence simultanée dans le sang de B.S.P. et de déhydrocholate de sodium.

Administré à des doses inférieures à celles capables de déterminer une lésion histologique ou de réduire le métabolisme de la cellule hépatique, le déhydrocholate retarde la fixation hépatique du colorant. Et ceci, dans des proportions qui dépendent à l'origine des doses injectées, puis en fonction du temps, des quantités respectives présentes dans le sang et le foie.

Ce phénomène se traduit par un ralentissement de l'épuration sanguine de la B.S.P. qui est d'autant plus important et plus long que la dose de déhydrocholate dépasse celle de la B.S.P.

L'élimination biliaire, qui est liée à la quantité de colorant intra-hépatique, est plus ou moins modifiée, en fonction de la quantité de colorant qui parvient à se fixer dans les cellules du parenchyme.

Dans ces conditions, comme l'ont montré BOURDON et FAUVERT (1960), la courbe d'épuration sanguine ne renseigne absolument pas sur l'aptitude des cellules hépatiques à excréter le colorant.

CONCLUSIONS

I. — L'épuration sanguine de la B.S.P. dépend quantitativement de deux processus :

1°. — *La captation par les tissus :*

Précoce, relativement importante, indépendante de l'intégrité cellulaire, elle est proportionnelle au débit sanguin et à la concentration.

En raison de sa masse et de sa structure sinusoidale qui multiplie les contacts entre le sang et les cellules, le foie y prend une part prépondérante. Il accumule dans les 5 minutes qui suivent l'injection près de 50 % de la quantité administrée.

Le rapport entre la concentration hépatique et la concentration sanguine tend vers un équilibre indépendant de la dose, de l'ordre de 85/15 (si $C_{\text{Hep}} + C_{\text{Sg}} = 100$).

Les tissus extra-hépatiques fixent environ 20 % de la B.S.P. injectée, dès le début de l'expérience.

2°. — *L'élimination biliaire :*

Elle débute dans les secondes qui suivent l'injection et la concentration dans la bile est maximale d'emblée: 13,6 mg en moyenne, par ml. Elle se poursuit jusqu'à la disparition complète du colorant injecté. Mais l'aptitude excrétoire des cellules étant limitée, elle ne dépasse pas 35 à 40 microgrammes par minute et par gramme de foie.

Si la dose injectée est inférieure à 2,5 mg (par fraction de 100 g de poids corporel), la quantité de B.S.P. intra-hépatique est inférieure à la capacité d'excrétion du parenchyme. L'élimination se fait alors proportionnellement à la dose et indépendamment du poids relatif du foie (calculé pour 100 g de poids corporel). La sommation des quantités éliminées croît exponentiellement avec le temps.

Si la dose est supérieure à 2,5 mg, la quantité accumulée dans le foie est suffisante pour que la quantité éliminée puisse être maximale. Dans ces conditions, la sommation des quantités éliminées, en fonction du temps, est linéaire pendant toute la durée de l'épuration sanguine et dépend du poids relatif du foie. Ultérieurement, la décroissance de

la quantité intra-hépatique reproduit les conditions expérimentales précédentes, et l'élimination se poursuit, comme pour les doses inférieures à 2,5 mg.

II. — Une technique simple de prélèvement sanguin dans le sinus veineux rétro-orbitaire permet d'établir avec précision *la courbe d'épuration sanguine de doses variables de B.S.P.*

1°) Lorsque les doses sont inférieures à 5 mg, les courbes expérimentales d'épuration sanguine décroissent exponentiellement avec le temps. Elles sont définies par leur pente, K, et par la vitesse initiale d'extraction P, (en mg),

$$K = \frac{\log C_1 - \log C_2}{t_2 - t_1} \text{ et } P = Q \cdot 2,3 K$$

si Q est la dose injectée (en mg).

Mais si la dose est égale ou supérieure à 5 mg, la courbe présente une première phase, rapide, suivie d'une seconde, plus lente, qui décroît exponentiellement. Cette composante lente est caractérisée par sa pente, K_E , qui possède la particularité d'être inversement proportionnelle à la dose (D) (de 5 à 10 mg).

$$K \cdot D = Cte = 0,635.$$

2°) *Décomposition de la courbe expérimentale complexe.*

L'expérience montre que la composante lente est déterminée par l'élimination biliaire de la B.S.P. L'occlusion temporaire du cholédoque cause l'arrêt de l'épuration sanguine. Si l'on rétablit le transit, la vitesse d'épuration K_E , (0,062) est comparable à la vitesse normalement observée K_E (0,060) chez le même animal. L'intoxication par le KCN réduit K_E en fonction de la diminution de l'élimination biliaire de la B.S.P. simultanément mesurée.

En soustrayant la composante lente, extrapolée, de la première phase de la courbe expérimentale, on obtient une composante rapide dont la pente, K_A , de l'ordre de 0,300, est indépendante de la dose (de 5 à 15 mg). Il s'ensuit que P_A croît directement avec la dose. Taux constant, et extraction proportionnelle à la concentration, ce sont précisément les caractères que l'on attribue à l'accumulation tissulaire de la B.S.P.

En fait, la composante rapide traduit l'accumulation hépatique de la B.S.P. La quantité Q_{AO} (produit de C_{AO} , concentration initiale déterminée par l'extrapolation de la composante rapide par le volume sanguin) exprime la fraction de la quantité totale de colorant extraite du plasma suivant K_A . Elle est, sur la courbe moyenne des rats chez lesquels on a effectivement mesuré les concentrations tissulaires, de 44 %. La quantité maximale trouvée dans le foie de ces animaux a été de 46,3 %, 5 minutes après l'injection. A ce moment, la concentration sur la composante rapide, est de 1,5 % de C_{AO} , la participation du processus déterminant est donc pratiquement nulle.

Une preuve plus directe encore est donnée par la confrontation des épreuves successives, chez le même rat, de la B.S.P. (5 mg) et de l'or colloïdal radioactif à doses convenables pour la mesure du débit sanguin trans-hépatique. Les vitesses d'épuration de l'or colloïdal et celle de la B.S.P. suivant la composante rapide sont de même ordre :

$$K_{Au} = 0,306 \pm 0,053 \text{ et } K_A = 0,339 \pm 0,065$$

en moyenne pour 10 animaux.

Cette similitude subsiste si l'on réduit l'apport sanguin portal, pour la ligature d'une veine mésentérique.

Chez 4 rats, les résultats ont été :

$$\begin{array}{l} \text{— } K_{Au} = : 0,130 \quad 0,175 \quad 0,230 \quad 0,190 \\ \text{— } K_A \quad : 0,130 \quad 0,165 \quad 0,240 \quad 0,192. \end{array}$$

Dans ces conditions, connaissant le volume sanguin (V) et le poids (F) du foie, on peut, à partir de la composante rapide, calculer le débit sanguin sinusoïdal (ou physiologiquement actif) du foie par minute et par gramme d'organe.

$$\text{D.S.S./g/m} = \frac{V \cdot 2,3 K_A}{F}$$

Les résultats, de l'ordre de 1 à 1,4 ml, sont tout à fait comparables à ceux qu'on obtient par les techniques classiques.

III. — *Analyse quantitative de la courbe expérimentale complexe :*

L'épuration s'effectuant exponentiellement, on admet, par convention, que lorsque la concentration a décréu de 99 % de sa valeur initiale, le processus déterminant cesse d'être efficace. Il en résulte que Q_{AO} est accumulée dans le foie au temps T où $C_{AT} = 1 \% C_{AO}$. A ce moment, Q_{AO} est, avec la quantité contenue dans le sang Q_{Eq} , dans le rapport d'équilibre expérimentalement constaté plus haut, paragraphe I.

La dose étant égale ou supérieure à 5 mg, la quantité moyenne éliminée par minute, Q_E/m est maximale.

Dans la minute qui succède au temps T, Q_{AO} est diminuée de Q_E/m . La quantité extraite du sang pour rétablir l'équilibre entre la concentration hépatique et la concentration sanguine est au plus égale à Q_E/m . Ce qui détermine entre T et T + 1 minute, une vitesse d'épuration K'_A proportionnelle à K_A , telle que :

$$2,3 K'_A = \frac{Q_E/m \cdot 100}{Q_{Eq}}$$

Les valeurs de K'_A , ainsi obtenues sont très comparables à celles expérimentalement trouvées pour la pente K_E de la composante lente. Chez 11 animaux, on a en moyenne :

$$K'_A = 0,072 \text{ et } K_E = 0,072.$$

Inversement, il est possible, connaissant K_E par les dosages sanguins, de déterminer Q_{Eq} en fonction de la composante rapide, et,

en conséquence, de calculer Q_E/m , quantité maximale de B.S.P. éliminée en une minute par le foie. Pour 12 animaux, le calcul donne $Q_E/m = 0,427$ mg, contre 0,430 mg effectivement dosés dans la bile.

Un gramme de foie excréant au plus de 35 à 40 microgrammes de B.S.P. par minute, le poids de foie physiologiquement actif peut être calculé sur ces données :

$$F = \frac{Q_E/m}{37}$$

Pour les 12 mêmes rats, les résultats sont en moyenne, de 11,790 g par le calcul, contre 11,900 g par la pesée.

Enfin, il est possible de calculer la quantité de B.S.P. qui reste dans le foie à la fin de l'épuration sanguine. Elle est égale à Q_{AO} , augmentée, au plus, de la quantité Q_{Eq} contenue dans le sang au temps T, et diminuée de la quantité Q_{Et} éliminée depuis le temps T. Le résultat moyen, pour 11 rats, est de 18,3 % de la quantité injectée. Chiffre voisin de celui que donne la mesure directe : on a dosé 16,5 % de la quantité injectée dans le foie quand le sang ne contient plus que 1,6 % du colorant administré.

IV. — L'étude de l'évolution du rapport entre la concentration hépatique et la concentration sanguine a révélé un ralentissement transitoire de la vitesse d'épuration, comparativement à l'élimination biliaire. Retard vraisemblablement lié à l'apparition dans le sang des formes modifiées de la B.S.P. signalées par KREBS (1959). Cette manifestation se produisant tardivement (vers 15 minutes après l'injection), et pour des concentrations sanguines relativement basses (inférieures à 10 % de la concentration initiale) ne compliquent pas l'analyse de la courbe dans ces conditions expérimentales.

V. — Les facteurs susceptibles de modifier les rapports entre l'accumulation tissulaire d'une part, et l'élimination biliaire d'autre part, avec l'épuration sanguine ont été discutés :

1°) Il a été montré que, toutes choses égales d'ailleurs K_E est proportionnel à K_A . Ce qui interdit de considérer K_E comme une évaluation absolue de la fonction d'élimination biliaire.

2°) Il a été signalé qu'en certain cas, la fixation tissulaire de la B.S.P. est perturbée, l'élimination biliaire du colorant demeurant normale. Dans ces conditions (lors de la présence simultanée dans le sang, par exemple de B.S.P. et de déhydrocholate de sodium) le colorant ne pénètre pas dans les cellules au taux normal, l'épuration sanguine est sans rapport avec les fonctions hépatiques.

VI. — La dose de B.S.P. la plus convenable à l'étude des fonctions hépatiques est, en conclusion de cette étude, celle qui permet, au cours des premières minutes qui suivent l'injection, l'accumulation intra-hépatique d'une quantité suffisante pour que soit utilisée au maximum l'activité excrétoire du parenchyme. Dans ces conditions, il est possible d'obtenir, à partir de la seule courbe d'épuration sanguine, des informations concernant :

- le débit sanguin sinusoïdal trans-hépatique;
- l'élimination biliaire maximale par minute du colorant;

— le poids de foie physiologiquement actif.

Chez le rat, dans les conditions expérimentales rapportées au cours de ce travail, c'est la dose de 5 mg (par fraction de 100 g de poids corporel) qui a été le plus souvent utilisée. Pour trois raisons :

1. — L'analyse de la courbe d'épuration sanguine peut être faite avec précision.

2. — La fixation extra-hépatique du colorant devient rapidement insignifiante, en raison de la décroissance rapide de la concentration sanguine.

3. — Enfin, pour une valeur donnée de Q_E/m , K_E prend une valeur correspondante plus élevée qu'avec toute autre dose supérieure (puisque l'on a $K \cdot D = Cte$), l'épreuve est donc à son maximum de sensibilité.

Travail effectué au Laboratoire Central
de l'Hôpital Beaujon.
Service du Professeur René FAUVERT.

Les demandes de tirés à part devront être adressées à :

Centre de Recherches Allergiques et Immunologiques
Hôpital Broussais (Professeur HALPERN), 96, rue Didot, Paris-14^e.

RESUME

Les faits expérimentaux rapportés montrent que deux facteurs concourent à l'épuration sanguine de la B.S.P.

— la captation par les tissus : immédiate, indépendante de l'intégrité cellulaire, elle est proportionnelle au débit sanguin et à la concentration;

— l'élimination biliaire, par contre, sous la dépendance d'un mécanisme complexe et d'activité enzymatique, est d'efficacité limitée.

L'étude quantitative de ces deux processus et de leur interférence avec l'épuration sanguine de la B.S.P. a été réalisée chez le rat. A condition d'injecter une dose de B.S.P. telle que la quantité intrahépatique accumulée au cours des premières minutes après l'injection soit suffisante pour permettre une efficacité maximale de l'activité sécrétoire du parenchyme, il est possible, à partir de la seule courbe d'épuration sanguine, d'obtenir des informations concernant :

— le débit sanguin sinusoïdal transhépatique,

— l'élimination biliaire maximale par minute du colorant et, par suite, de déterminer le poids de foie physiologiquement actif.

La dose convenable, dans les conditions expérimentales précisées, est de 5 mg par fraction de 100 g de poids corporel chez le rat.

SUMMARY

Experimental facts reported, show that two factors compete to blood expurgation of B S P.

The picking up by tissues : immediate, independant of the cellular integrity, is proportional to blood flow and to concentration.

The biliary excretion, on the contrary, under the dependance of a complicated mecanism and of enzymatic activity, is of limited efficacy.

Quantitative study of this two process and their interference with the blood expurgation of BSP has been performed in rat. At the condition to inject a dose of BSP such as the intrahepatic quantity in the first minutes after injection is sufficient for allow a maximal efficacy of the secretory activity of the parenchyma, it is possible, with the sole curve of blood expurgation to obtain informations concerning :

— The transhepatic sinusoidal blood flow

— The maximal biliary elimination minute of the colouring and consequently to determine the weight of the physiologically active liver.

The proper dose, in the specified experimental conditions is of 5 mg by fraction of 100 g of body weight in rat.

ZUSAMMENFASSUNG

Die zitierten experimentellen Angaben zeigen, dass 2 Faktoren bei der BSP-Blutentschlackung mitspielen.

— Das Abfangen durch die Gewebe : es ist unmittelbar, unabhängig von der Integrität der Zellen, es ist zum Blutsekundenvolumen und zur Konzentration proportionell.

— Die Gallenausscheidung hingegen wird durch einen komplizierten Mechanismus reguliert und ist von der Enzymaktivität abhängig. Sie hat eher eine begrenzte Wirkung.

Die quantitative Untersuchung dieser beiden Prozesse und ihre Interferenz in der BSP-Blutentschlackung wurde bei der Ratte vorgenommen. Unter der Bedingung, eine solche Dosis einzuspritzen, dass die in den ersten Minuten nach der Einspritzung intrahepatische angehäufte Quantität genügt, um die maximale sekretionsaktivität des Parenchyms auszulösen, ist es möglich, indem man einzig von der Blutentschlackungskurve ausgeht, folgende Informationen zu erhalten :

— das transhepatische sinusoidale Blutsekundenvolumen

— die maximale Minutengallenausscheidung des Farbstoffes und — davon ausgehend — das physiologisch aktive Lebergewicht zu bestimmen.

Die richtige Dosis unter diesen angezeigten experimentellen Bedingungen ist bei der Ratte 5 mg für je 100 g Körpergewicht.

RESUMEN

Muestran los hechos experimentales relatados que dos factores contribuyen a la epuración sanguínea de la BSP.

— la captation por los tejidos : inmediata, independiente de la integridad celular, es proporcional al flujo sanguíneo y a la concentración.

— la eliminación biliar, a lo contrario, bajó la dependencia de un mecanismo complejo y de actividad enzimática, es de eficacia limitada.

Ha sido realizado sobre la rata el estudio cantitativo de estos dos procesos y su interferencia con la epuración sanguínea de la B.S.P. Es posible si se inyecta una dosis de B.S.P. tal que la cantidad intra-hepática durante los primeros minutos después la inyección sea suficiente para permitir eficacia maximal de la actividad secretoria del parenquimá, obtener con la sola curva de la epuración sanguínea, los informes refiriendose a :

— el flujo sanguíneo sinusoidal transhepático,

— la eliminación biliar maximal por minuto del colorante y, por esto, determinar el peso de hígado fisiológicamente activo.

La dosis conveniente, en las condiciones experimentales precisadas, es de 5 mg por fracción de 100 g de peso corporal para la rata.

BIBLIOGRAPHIE

- BOURDON G. et R. FAUVERT. — Etude expérimentale de l'épuration sanguine de la B.S.P. par le foie, chez le rat Wistar.
Rev. int. Hépat., 1958, 7, 473-524.
- BOURDON G., FAUVERT R., NICOLLO F. et D'AUTEUIL P. — Recherches sur le mécanisme des perturbations apportées par le déhydrocholate de sodium à l'épuration sanguine et à l'élimination biliaire de la B.S.P.
Rev. int. Hépat., 1960, 8, 1215-1246.
- BRADLEY S.E., INGELFINGER F.J., BRADLEY G.P. et CURRY J.J. — The estimation of hepatic blood flow in man.
J. clin. Invest., 1945, 24, 890-895.
- BRADLEY S.E. — Liver function as studied by hepatic vein catheterization.
Tr. Conference Liver Injury, Josiah Macy Foundation (N.Y.), 1946, 5, 38.
- BRAUER R.W. — Multiples parameters needed to adequately describe the status of the hepatic circulation.
« Hepatic Frontiers ». Inter. Symp. Henry Ford Hospital (Detroit), Little and Cy, Ed. (Boston), 1957.
- BRAUER R.W., LEONG G.E. et HOLLOWAY R.J. — Mechanics of bile secretion. Effects of perfusion pressure and temperature on bile flow and bile secretion pressure.
Am. J. Physiol., 1954, 177, 103-112.
- BRAUER R.W. et PESSOTTI R. — The removal of B.S.P. from blood plasma by the liver of the rat.
J. Pharmacol. exp. Therap., 1949, 97, 358-370.
- BRAUER R.W. et PESSOTTI R. — Hepatic uptake and biliary excretion of B.S.P. in the dog.
Am. J. Physiol., 1950, 162, 565-574.
- BRAUER R.W., PESSOTTI R. et KREBS J.S. — The distribution and excretion of ³⁵S labelled B.S.P. Na administered to dogs by continuous infusion.
J. Clin. Invest., 1955, 34, 35-43.
- BRAUER R.W., PESSOTTI R. et PIZZOLATO P. — Isolated rat liver preparation. Bile production and other basic properties.
Proc. Soc. exp. Biol. Med., 1951, 78, 174-181.
- BIOZZI G. — Communication personnelle (1955).
- CANTAROW A. et WIRTS C.W. — Excretion of B.S.P. in the bile.
Proc. Soc. exp. Biol. Med., 1941, 47, 252-254.
- CAROLI J., NYS A. et ALLIOT G. — Pentes d'élimination de la B.S.P. après une injection unique : leur valeur diagnostique dans les affections biliaires.
Sem. Hôp. Paris Path. Biol., 1956, 32, 1013-1021.
- CASTENFORS H., ELIASH J. et HULTMAN E. — The splanchnic blood flow and oxygen consumption in man by the B.S.P. method with special reference to the influence of the peripheral dye level.
Scand. J. clin. lab. Invest., 1960, 12, 158-171.
- CHARBONNIER A. et BRISBOIS P. — Etude chromatographique de la B.S.P. au cours de l'épreuve clinique d'épuration plasmatique de ce colorant.
Rev. int. Hépat., 1960, 8, 1163-1213.
- CHARDON G., NEVERRE et JEANOEL G. — Modifications de la sécrétion biliaire sous l'influence du déficit en oxygène.

- C.R. Soc. Biol., 1949, 143, 697-698.
- COHN C., LEVINE R. et KOLINSKI M. — Hepatic and peripheral removal rates in the dog for intravenously injected B.S.P.
Am. J. Physiol., 1948, 155, 286-289.
- COHN C., LEVINE R. et STREICHER P. — Rate of removal of intravenously injected B.S.P. by the liver and extrahepatic tissues of the dog.
Am. J. Physiol., 1947, 150, 299-303.
- DANIEL R.M. et PRICHARD M. — Variations in the circulation of the venous blood within the liver.
J. Physiol. (London), 1951, 114, 521-537.
- DELCOURT R. — Le comportement électrophorétique des phthaléines isolées et en présence de protéines.
In « Protides of the biological fluids ». Elsevier, Ed. 1958, 118-126.
- DOBSON E.L. et JONES H.B. — The behaviour of intravenously injected particulate material. Its rate of disappearance from the blood stream as a measure of liver blood flow.
Acta med. scand., 1952, 144 suppl. 273, 1-71.
- FAUVERT R. — The concept of hepatic clearance.
Gastroenterology, 1959, 37 : 603-610.
- FIESSINGER N. — Nouveaux procédés d'exploration fonctionnelle du foie.
Masson, Ed. Paris, 1934.
- GOODMAN R.D. — B.S.P. clearance : a qualitative clinical test of liver function.
J. Lab. clin. Med., 1952, 40, 531-536.
- GRODSKY G.M., CARBONE J.V. et FANSKA R. — Identification of metabolites of B.S.P.
J. clin. Invest., 1959, 38, 1981-1988.
- HALL C.E., NASH J.B. et HALL O. — Erythrocytes survival and blood volume as determined by labeling the red cells with ⁵¹Cr.
Am. J. Physiol. 1957, 190, 327-329.
- HALPERN B.N., BENACERRAF B. et BIOZZI G. — Quantitative studies of the granulopocytic activity of the Reticulo-endothelial System.
Brit. J. exp. Pathol., 1953, 34, 426-440.
- HALPERN B.N., BENACERRAF B., BIOZZI G. et STIFFEL C. — Facteurs régissant la fonction phagocytaire du système réticulo-endothélial.
Rev. Hémat., 1954, 9, 621-642.
- HALPERN B.N., BIOZZI G., MENE G. et BENACERRAF B. — Etude quantitative de l'activité granulopocytique du système réticulo-endothélial par l'injection intra-veineuse d'encre de Chine chez les diverses espèces animales.
Ann. Inst. Pasteur, 1951, 80, 1-23.
- HALPERN B.N., BIOZZI G., BENACERRAF B., STIFFEL C. et HILLEMANN B. — Cinétique de la phagocytose d'une sérum-albumine humaine spécialement traitée et radiomarquée, et son application à l'étude de la circulation hépatique chez l'homme.
C.R. Soc. Biol., 1956, 150, 1307-1311.
- HALPERN B.N. et PACAUD. — Technique de prélèvement d'échantillon de sang chez les petits animaux de laboratoire par ponctions du plexus ophtalmique.
C.R. Soc. Biol., 1951, 145, 1465-1466.
- HANSON V. — Liver cell secretion under normal and pathologic conditions studied by fluorescence microscopy on living rats.
Acta Physiol. Scand., 1952, suppl. 101, 28, 1, 268.
- HIGGINS F.E., FOULK W. et BOLLMAN J.L. — Column chromatography of bile, serum and urine after intravenous administration of B.S.P.
Gastroenterology, 1960, 38, 194-202.
- HOBER R. et TITAJEW A. — Ueber die sekretionarbeit von Leber von Frosch.
Pflüg's Arch., 1930, 223, 180-194.
- HORWATH S.M., HUTT B.K., KNAPE P. et WERNER A.Y. — Studies on B.S.P. and cardiac output in the hepatectomized dog.
J. Physio. (London), 1953, 119, 129-138.
- HUNTON D.B., BOLLMAN J.L. et HOFFMAN H.N. — Studies of hepatic function with endocyanine green.
Gastroenterology, 1960, 39, 713-724.

- JAVITT N.B., WHEELER H.O., BAKER K.J. et RAMOS O. — Intra-hepatic conjugation of B.S.P. and glutathion.
J. clin. Invest., 1959, 38, 1015.
- KLEIN R.J. et LEVINSON S.A. — Removal of B.S.P. from the blood stream by the reticuloendothelial system.
Proc. Soc. exp. Biol. Med., 1933, 31, 179-181.
- KREBS J. — Relation of the metabolism of B.S.P. Na to its blood clearance in the rat.
Am. J. Physiol., 1959, 197, 292-296.
- KREBS J. et BRAUER R.W. — Uptake of B.S.P. by the liver of the rat. Studies with radioactive B.S.P.
Fed. Proc., 1949, 8, 310.
- KREBS J. et BRAUER R.W. — The metabolism of B.S.P. in the rat.
UNSRDL - TR 190. Novembre 1957.
- KREBS J. et BRAUER R.W. — Metabolism of B.S.P. in the rat.
Am. J. Physiol., 1958, 194, 37-43.
- KREBS J. et BRAUER R.W. — Modification of B.S.P. metabolism by bile stasis and liver injury.
Am. J. Physiol., 1960, 198, 774-778.
- LAVERS G.D., COLE W.H., KEETON R.W., GEHARDT M.C. et DYNECOWICZ P.C. — B.S.P. clearance.
J. Lab. clin. Med., 1949, 34, 965-972.
- ROSENTHAL J.M. et WHITE E.C. — Clinical application of the B.S.P. test for hepatic function.
J. Am. Med. Ass., 1925, 84, 1112-1114.
- ROSENEAU W., CARBONE J.V. et GRODSKY G.M. — Metabolism of B.S.P. in the hepatectomized and nephrectomized dog.
Proc. Soc. exp. Biol. Med., 1959, 102, 13.
- SELKURT E.E. — Validity of the B.S.P. method for estimating hepatic blood flow.
Am. J. Physiol., 1953, 175, 461-467.
- SHEPPARD C.W., WELLS E.B., HAHN P.F. et GOODNEL J.F.B. — Studies of the distribution of intravenous administered colloidal sols of manganese dioxide and gold in human beings and dogs using radioactive isotopes.
J. Lab. clin. Med., 1947, 32, 274-297.
- SHEPPARD G.W., GILBERT J. et HAHN P.F. — Disappearance of isotopically labeled gold colloids from the circulation of dog.
Am. J. Physiol., 1951, 164, 345-350.
- SHERLOCK S., BEARN A.G., BILLING B.H. et PATERSON J.C. — Splanchnic blood flow in man by the B.S.P. method. The relation of peripheral plasma B.S.P. levels to the calculated flow.
J. Lab. clin. Med., 1950, 35, 923-932.
- VANLERENBERGHE J. — Etude de l'intervention de quelques facteurs enzymatiques dans la cholérèse.
Thèse Sciences, Lille, 1959.
- VETTER H., FALKNER R. et NEUMAYR A. — The disappearance rate of colloidal radiogold from the circulation and its application to the estimation of the liver blood flow in normal and cirrhotic patients.
J. clin. Invest., 1954, 33, 1594-1602.
- WERNER Y. et HORWATH S.M. — Measurement of hepatic blood flow in the dog by the B.S.P. method.
J. clin. Invest., 1952, 31, 433-439.
- ZILVERSMIT D.B. et SPORE M.L. — Bromsulfalein retention resulting from liver damage by a carbonic free filtrate of Indian Ink.
Proc. Soc. exp. Biol. Med., 1954, 86, 442-444.
- CANTAROW A. et WIRTS C.W. — The effect of dogs bile, certain bile acids and India Ink on bilirubinemia and the excretion of B.S.P.
Am. J. digest. Dis., 1943, 10, 261-266.
-

TABLE DES MATIERES

	PAGES
INTRODUCTION	9
MATERIEL ET METHODES	19
RESULTATS EXPERIMENTAUX	21

CHAPITRE I

<i>ETUDE DE L'INFLUENCE DE LA DOSE INJECTEE SUR L'EPURATION SANGUINE. DETERMINATION D'UNE HYPOTHESE DE TRAVAIL</i>	21
I — Variations qualitatives de la courbe d'épuration sanguine en fonction de la dose	22
II — Décomposition théorique de la courbe expérimentale complexe	24

CHAPITRE II

<i>ETUDE QUANTITATIVE DE L'ACCUMULATION TISSULAIRE DE LA B.S.P. ET DE SA PARTICIPATION A L'EPURATION SANGUINE DE CE COLORANT</i> ..	28
I — Etude de la répartition entre le sang et les tissus de doses variables de B.S.P. en cas d'occlusion extemporanée du cholédoque	30
1° 60 minutes après l'injection de la B.S.P.	
2° Variations observées avec la durée de l'épreuve.	
3° Influence de la durée préalable de la ligature du cholédoque.	
II — Etude cinétique de la concentration en B.S.P. de divers tissus après l'injection de 5 et de 15 mg de B.S.P.	37

CHAPITRE III

<i>MESURE DE LA CIRCULATION PHYSIOLOGIQUE- MENT ACTIVE DU FOIE</i>	43
I — Comparaison entre les vitesses d'épuration sanguines de l'or colloïdal radio-actif, K_{Au} , et de la B.S.P. suivant la composante rapide K_A	44
II — Comparaison entre K_{Au} et K_A en cas de réduction de l'apport sanguin portal par ligature d'une veine mésentérique	45
III — Rapport entre K_A et le poids relatif du foie (calculé par 100 g de poids corporel)	47

CHAPITRE IV

<i>ETUDE QUANTITATIVE DE L'ELIMINATION BILIAI- RE DE LA B.S.P. ET DE SON INTERFERENCE AVEC L'EPURATION SANGUINE DE CE COLORANT</i>	48
I — Etude quantitative de l'élimination biliaire de la B.S.P.	48
1° Apparition du colorant dans la bile.	
2° Evolution de la quantité de B.S.P. éliminée.	
3° Evolution de la concentration biliaire de la B.S.P.	
II — Interférence de l'élimination biliaire de la B.S.P. avec l'épuration sanguine du colorant. Démonstra- tion expérimentale	54
1° par occlusion transitoire du cholédoque.	
2° par agression élective (KCN).	
III — Evolution de K_E en fonction du poids relatif du foie	65
<i>CONFRONTATION DES RESULTATS : L'ANALYSE QUANTITATIVE DE LA COURSE EXPERIMENTALE D'EPURATION SANGUINE</i>	66
I — Dose de 5 mg	66
1° La notion de concentration d'équilibre.	
2° Le calcul de la quantité maximale éliminée en une minute par un gramme de foie, d'après la courbe d'épuration sanguine.	
3° Le calcul du poids du foie physiologiquement actif.	

4° Le rapport d'équilibre entre la quantité de B.S.P. intra-hépatique maximale Q_{AO} et la quantité Q_{Eq} présente dans le sang au temps T.

5° Calcul de K_A (constante caractérisant la vitesse de l'épuration sanguine destinée à compenser la décroissance de la quantité intra-hépatique de B.S.P. déterminée par l'élimination biliaire du colorant).

II — Dose de 15 mg	73
DISCUSSION GENERALE	75
CONCLUSIONS	80
BIBLIOGRAPHIE	86

DEUXIEME THESE

Propositions données par la faculté

« Action du déhydrocholate de sodium (D.H.C.) sur l'épuration sanguine de la bromesulphone-phaléine (B.S.P.) chez le Rat ».

Vu et approuvé :

Paris, le 25 juin 1962

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

Marc ZAMANSKY.

Vu

et Permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

Jean ROCHE.

